



MANUEL DE SÉCURITÉ
BIOLOGIQUE POUR
LES LABORATOIRES DE LA
TUBERCULOSE



Organisation
mondiale de la Santé



MANUEL DE SÉCURITÉ
BIOLOGIQUE POUR
LES LABORATOIRES DE LA
TUBERCULOSE



Organisation
mondiale de la Santé

Catalogage à la source: Bibliothèque de l'OMS:

Manuel de sécurité biologique pour les laboratoires de la tuberculose.

1. Laboratoires – normes. 2. Infection de laboratoire – prévention et contrôle. 3. Tuberculose – diagnostic. 4. Confinement de risques biologiques. 5. Manuels de laboratoire. 6. Directive. I. Organisation mondiale de la Santé.

ISBN 978 92 4 250463 7

(classification NLM: WF 220)

© Organisation mondiale de la Santé 2013

Tous droits réservés. Les publications de l'Organisation mondiale de la Santé sont disponibles sur le site Web de l'OMS (www.who.int) ou peuvent être achetées auprès des Éditions de l'OMS, Organisation mondiale de la Santé, 20 avenue Appia, 1211 Genève 27 (Suisse) (téléphone : +41 22 791 3264 ; télécopie : +41 22 791 4857 ; courriel : bookorders@who.int). Les demandes relatives à la permission de reproduire ou de traduire des publications de l'OMS – que ce soit pour la vente ou une diffusion non commerciale – doivent être envoyées aux Éditions de l'OMS via le site Web de l'OMS à l'adresse http://www.who.int/about/licensing/copyright_form/en/index.html

Les appellations employées dans la présente publication et la présentation des données qui y figurent n'impliquent de la part de l'Organisation mondiale de la Santé aucune prise de position quant au statut juridique des pays, territoires, villes ou zones, ou de leurs autorités, ni quant au tracé de leurs frontières ou limites. Les lignes en pointillé sur les cartes représentent des frontières approximatives dont le tracé peut ne pas avoir fait l'objet d'un accord définitif.

La mention de firmes et de produits commerciaux ne signifie pas que ces firmes et ces produits commerciaux sont agréés ou recommandés par l'Organisation mondiale de la Santé, de préférence à d'autres de nature analogue. Sauf erreur ou omission, une majuscule initiale indique qu'il s'agit d'un nom déposé.

L'Organisation mondiale de la Santé a pris toutes les précautions raisonnables pour vérifier les informations contenues dans la présente publication. Toutefois, le matériel publié est diffusé sans aucune garantie, expresse ou implicite. La responsabilité de l'interprétation et de l'utilisation dudit matériel incombe au lecteur. En aucun cas, l'Organisation mondiale de la Santé ne saurait être tenue responsable des préjudices subis du fait de son utilisation.

Designed by GPS Publishing

Printed in Luxembourg

WHO/HTM/TB/2012.11

Table des matières

RÉSUMÉ D'ORIENTATION	V
PARTICIPANTS AU PROCESSUS D'ÉLABORATION DE CES DIRECTIVES	VI
ABRÉVIATIONS ET SIGLES	VII
INTRODUCTION	1
1. ÉVALUATION DU RISQUE ET CLASSIFICATION DES LABORATOIRES DE LA TUBERCULOSE	6
1.1 ÉVALUATION DU RISQUE POUR LES LABORATOIRES DE LA TUBERCULOSE : DE QUOI S'AGIT-IL ?	6
1.2 IDENTIFICATION DES DANGERS	7
1.3 DÉTERMINATION DES RISQUES	7
1.4 SUIVI DES RISQUES ET DES MESURES D'ATTÉNUATION	11
1.5 PROGRAMME DE SANTÉ AU TRAVAIL DESTINÉ AUX EMPLOYÉS	12
1.6 CLASSIFICATION DES LABORATOIRES DE LA TUBERCULOSE	12
2. MESURES ESSENTIELLES DE SÉCURITÉ BIOLOGIQUE POUR LES LABORATOIRES DE LA TUBERCULOSE	14
2.1 CODES DE PRATIQUE	14
2.2 ÉQUIPEMENTS	18
2.3 CONCEPTION ET INSTALLATIONS DES LABORATOIRES	18
2.4 FORMATION	19
2.5 GESTION DES DÉCHETS	19
2.6 MODES OPÉRATOIRES POUR L'ÉLIMINATION DU MATÉRIEL ET DES OBJETS CONTAMINÉS	21
3. LABORATOIRES À FAIBLE RISQUE	23
3.1 FACTEURS QUI ACCROISSENT LE RISQUE D'INFECTION	23
3.2 DÉTAILS PARTICULIERS ET MESURES DE SÉCURITÉ ESSENTIELLES MINIMALES	23
4. LABORATOIRES À RISQUE MODÉRÉ	27
4.1 FACTEURS QUI ACCROISSENT LE RISQUE D'INFECTION	27
4.2 DÉTAILS PARTICULIERS ET MESURES DE SÉCURITÉ ESSENTIELLES MINIMALES	27

5. LABORATOIRES À HAUT RISQUE (LABORATOIRES DE CONFINEMENT POUR LA TUBERCULOSE)	31
5.1 FACTEURS QUI ACCROISSENT LE RISQUE D'INFECTION	31
5.2 DÉTAILS PARTICULIERS ET MESURES DE SÉCURITÉ NÉCESSAIRES	31
6. LES ÉQUIPEMENTS DE SÉCURITÉ	34
6.1 POSTES DE SÉCURITÉ MICROBIOLOGIQUE (APPELÉS AUSSI ENCEINTES DE SÉCURITÉ BIOLOGIQUE)	34
6.2 CENTRIFUGEUSES	40
6.3 AUTOCLAVES	41
7. ÉQUIPEMENTS ET VÊTEMENTS DE PROTECTION INDIVIDUELLE	44
7.1 BLOUSES OU SARRAUS DE LABORATOIRE BOUTONNANT DANS LE DOS	44
7.2 APPAREILS/MASQUES RESPIRATOIRES	45
7.3 GANTS	46
8. PLANS DE PRÉPARATION ET DE RÉACTION AUX SITUATIONS D'URGENCE	48
8.1 PLAN DE PRÉPARATION AUX SITUATIONS D'URGENCE	48
8.2 MARCHE À SUIVRE FACE À UNE SITUATION D'URGENCE DANS UN LABORATOIRE DE LA TUBERCULOSE	48
8.3 NÉCESSAIRE POUR LE NETTOYAGE DES SUBSTANCES RÉPANDUES	49
9. BIBLIOGRAPHIE	51
10. ANNEXE	53
ANNEXE 1 : PARTICIPANTS À LA RÉUNION	53
ANNEXE 2 : DÉCLARATION D'INTÉRÊTS	54
ANNEXE 3 : GROUPE D'EXAMEN PAR DES PAIRS	55

Résumé d'orientation

À la suite d'une consultation technique qui s'est tenue en septembre 2008 à Atlanta (GA) entre l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) et les Centers for Disease Prevention and Control des États-Unis d'Amérique au sujet des stratégies, approches et partenariats susceptibles d'être mis en œuvre pour améliorer la sécurité biologique au laboratoire partout dans le monde, un groupe d'experts a été réuni en avril 2009 au Siège de l'OMS à Genève (Suisse) afin d'élaborer des lignes directrices concernant la sécurité biologique des techniques de laboratoire utilisées pour le diagnostic de la tuberculose. Les déclarations d'intérêts produites par les membres de ce groupe d'experts ont été examinées par le Service juridique de l'OMS préalablement à la réunion. Il s'agissait de parvenir à un consensus au sujet des principes de base à respecter dans la conception et les pratiques des laboratoires pour définir les critères minimaux garantissant la sécurité biologique des opérateurs lors des examens microscopiques, des cultures, des tests de sensibilité aux médicaments et des tests moléculaires pratiqués pour le diagnostic de la tuberculose dans différents pays et contextes épidémiologiques.

Le présent manuel a été élaboré à partir des travaux du groupe d'experts. Les recommandations qui y figurent reposent sur une évaluation des risques liés aux différentes techniques d'analyse mises en œuvre dans divers types de laboratoires de la tuberculose. Le manuel indique les exigences de base auxquelles doivent répondre les installations et les pratiques, exigences qui peuvent être adaptées pour respecter la réglementation locale ou nationale ou à la suite d'une évaluation des risques. L'évaluation des risques nécessite discernement et circonspection : d'un côté, une sous-estimation du risque peut exposer le personnel à des dangers de nature biologique, mais d'un autre côté, chercher à réduire les risques par des mesures plus strictes qu'il n'est nécessaire peut créer un surcroît de travail inutile pour le personnel et entraîner des coûts plus élevés tant en ce qui concerne l'infrastructure du laboratoire que son entretien. Lors de l'évaluation des risques, il faut tenir compte des points suivants : charge bactérienne du matériel biologique (comme les échantillons et les cultures), viabilité des bacilles, possibilité de production d'aérosols par le matériel que l'on manipule lors de l'activité qui fait l'objet de l'évaluation, charge de travail du laboratoire, épidémiologie de la maladie et état de santé du personnel. Tout autre facteur susceptible d'influer sur la probabilité d'exposition à la tuberculose ou sur ses conséquences doit également être pris en considération.

Ces recommandations s'adressent aux directeurs et chefs de laboratoire ou responsables de programmes antituberculeux ainsi qu'aux techniciens qui pratiquent les examens nécessaires au diagnostic de la tuberculose, notamment lorsque la charge de travail est lourde et les ressources faibles. Dans le présent document on appellera "laboratoire de la tuberculose" le laboratoire ou la partie d'un laboratoire où l'on effectue le diagnostic de la tuberculose.

Les recommandations concernent spécifiquement les laboratoires qui examinent, selon un mode opératoire bien défini, des échantillons susceptibles de contenir *Mycobacterium tuberculosis*. Pour tout autre ensemble de germes pathogènes et de techniques d'examen, on pourra définir les précautions à prendre sur le plan de la sécurité biologique en procédant comme indiqué dans le présent manuel.

Le présent manuel a été approuvé en mai 2012¹ par le Comité d'examen des directives de l'OMS et des explications sont données dans le texte partout où celui-ci diffère du *Manuel de sécurité biologique en laboratoire*, troisième édition². Il vise à inspirer les prescriptions et les normes nationales en matière de sécurité biologique plutôt qu'à s'y substituer. Les recommandations ne prennent pas la place de la réglementation ou des prescriptions locales ou nationales en la matière.

Date de révision : 2017

Participants au processus d'élaboration de ces directives

Ont concouru à la rédaction du présent manuel :

Christopher Gilpin (responsable), Jean Iragena, Fuad Mirzayev, Wayne van Gemert, Karin Weyer

Les personnes suivantes ont participé à la Consultation technique conjointe CDC-OMS sur la sécurité biologique au laboratoire qui a eu lieu du 2 au 4 septembre 2008 à Atlanta, GA (États-Unis) :

May Chu, Daniela Cirillo, Philippe Dubois, Christopher Gilpin, Paul Jensen, Shanna Nesby, Nicoletta Previsani, John Ridderhof, Thomas M Shinnick, Véronique Vincent, Karin Weyer.

Les membres du Groupe d'experts qui s'est réuni au siège de l'OMS à Genève (Suisse) les 8 et 9 avril 2009 étaient les suivants :

Jenny Allen, May Chu, Daniela Cirillo, Sébastien Cognat, Philippe Dubois, Knut Feldmann, Christopher Gilpin, Jean Iragena, Paul Jensen, Moses Joloba, Jean Joly, Sang Jae Kim, Scott Kreitlein, Shanna Nesby, CN Paramasivan, Nicoletta Previsani, John Ridderhof, Thomas M Shinnick, Andrew Ramsay, Peter van't Erve, Véronique Vincent, Karin Weyer.

Les personnes suivantes ont participé au Groupe d'examen technique qui s'est réuni au siège de l'OMS à Genève (Suisse) les 22 et 23 août 2011 :

Heather Alexander, Pawan Angra, Daniela Cirillo, Gerrit Coetzee, Edward Desmond, Maria Alice da Silva Telles, Sara Irène Eyangoh, Knut Feldmann, Christopher Gilpin, Rumina Hasan, Jean Iragena, Moses Joloba, Fuad Mirzayev, Satoshi Mitarai, Richard O'Brien, Daniel Orozco, CN Paramasivan, Nicoletta Previsani, Leen Rigouts, Thomas M Shinnick, Akos Somoskovi, Magdi Samaan, Wayne van Gemert, Elsie Van Schalkwyck.

Les auteurs souhaitent également faire état des contributions originales d'un grand nombre de professionnels qui ont travaillé à la troisième édition du *Manuel de sécurité biologique en laboratoire* de l'OMS, ouvrage dont certaines parties du présent document sont des adaptations.

La préparation et la publication du présent document ont été rendues possibles grâce au soutien financier apporté par l'Agence des États-Unis pour le Développement international (USAID) et par les Centers for Disease Control and Prevention des États-Unis.

Abréviations et sigles

CAH	Changements d'air par heure
BAR	Bacilles acido-résistants
PSM	Poste de sécurité microbiologique (appelé aussi enceinte de sécurité biologique)
HEPA (filter)	Filtre à air à haute efficacité (on dit aussi THE, <i>très haute efficacité</i>)
MDR-TB	Tuberculose multirésistante
XDR-TB	Tuberculose ultrarésistante

Définitions

Aérosol infectieux	Suspension de particules contenant des agents infectieux pouvant être inhalés et provoquer une infection.
Air expulsé (extraction)	Air chassé du laboratoire sans être recyclé.
Blouses ou sarraus de laboratoire	<p>– <i>Blouses ou sarraus boutonnant devant</i>: blouses, généralement à manches longues, qui doivent être portées dans les locaux où le risque de tuberculose est modéré.</p> <p>– <i>Blouses ou sarraus boutonnant dans le dos</i>: blouses à manches longues dont les manchettes (au moins 30 mm de longueur) sont munies d'un élastique. Le personnel doit disposer de blouses de différentes tailles. Ce genre de blouse est à porter lors de travaux dans des locaux où le risque de tuberculose est élevé. Lorsque l'opérateur est debout, le bas de la blouse doit descendre sous le niveau de la paillasse et lui couvrir les genoux en position assise.</p>
Bonne technique microbiologique	Une bonne technique microbiologique implique le respect des conditions d'asepsie et d'autres pratiques qui, sans être définies de manière uniforme, n'en sont pas moins indispensables pour éviter que le laboratoire ne soit contaminé par les agents qui y sont manipulés ou que des agents présents dans l'environnement ne viennent à leur tour contaminer la zone de travail.
Chambre de distribution	Espace situé au sommet d'une enceinte de sécurité biologique à partir duquel une fraction de l'air est extraite de l'enceinte, le reste étant dirigé sur la zone de travail.
Danger	Désigne tout ce qui peut causer un dommage, quelle qu'en soit la probabilité de survenue.

Évaluation du risque	Processus d'appréciation du ou des risques d'être confronté à des dangers, compte tenu de la pertinence des mesures prises pour les prévenir; cet exercice consiste également à décider si l'on peut considérer le risque comme acceptable.
Manipulation productrice d'aérosol	Manipulation à haut risque susceptible de produire des noyaux de condensation par suite des forces mécaniques mises en jeu par ce genre d'opération, par exemple pipetage, vortexage, centrifugation ou mélange.
Nombre de changements d'air par heure	Nombre de fois par heure où l'air du laboratoire est expulsé et remplacé par de l'air propre.
Noyaux de condensation	Résidu de la dessiccation de gouttelettes de diamètre inférieur à 5 µm.
Plan de gestion de la sécurité biologique	Ensemble de mesures et de systèmes consistant en règlements administratifs, principes de confinement, pratiques et techniques de laboratoire, équipements de sécurité, préparation aux situations d'urgence et installations dont le but est de permettre au personnel d'un laboratoire de travailler sur des microorganismes infectieux dans de bonnes conditions de sécurité.
Risque	Probabilité de voir un danger se concrétiser, associée aux conséquences dommageables d'un événement lié à ce danger.
Sas	Petite pièce qui fait communiquer une partie du laboratoire avec une autre, par exemple avec le laboratoire de confinement où l'on travaille sur la tuberculose.
Stérilisation	Opération consistant à détruire les microorganismes infectieux.
Système de ventilation mécanique	Dispositif consistant à utiliser un ventilateur pour extraire l'air du laboratoire.
Transmission par voie aérienne	Transmission d'une maladie due à la dissémination de noyaux de condensation qui restent infectieux lorsqu'ils sont en suspension dans l'air.
Ventilation	La ventilation consiste à faire entrer l'air extérieur dans un bâtiment ou un laboratoire et à le distribuer à l'intérieur des locaux. Aux fins de la sécurité biologique, la ventilation a pour but de donner à respirer de l'air sain à l'intérieur d'un bâtiment en diluant dans de l'air propre tout aérosol généré dans les locaux et en produisant un flux qui permette d'échanger l'air à un débit donné.
Ventilation hybride	Association de la ventilation naturelle et d'une ventilation mécanique (on parle aussi de ventilation mixte).
Ventilation naturelle	Utilisation des forces naturelles pour faire entrer l'air extérieur, le répartir dans le laboratoire et l'en faire sortir.

Introduction

On entend par sécurité biologique au laboratoire la mise en œuvre d'un ensemble de mesures et de systèmes consistant en règlements administratifs, principes de confinement, pratiques et techniques de laboratoire, équipements de sécurité, préparation aux situations d'urgence et installations dont le but est de permettre au personnel d'un laboratoire de travailler sur des microorganismes infectieux dans de bonnes conditions de sécurité ; il s'agit également d'éviter que le personnel soit involontairement exposé à des microorganismes pathogènes ou qu'il y ait dissémination accidentelle de tels microorganismes. Le présent manuel indique quelles sont les mesures de sécurité biologique minimum qui doivent être prises aux différents niveaux des laboratoires chargés d'effectuer le diagnostic de la tuberculose afin de réduire de risque de contracter l'infection sur le lieu de travail.

Les recommandations et les méthodes qui figurent dans cet ouvrage ne sont pas destinées à remplacer la réglementation ou les prescriptions locales ou nationales en matière de sécurité biologique lorsqu'une réglementation particulière existe déjà pour les laboratoires de la tuberculose et les techniques d'examen correspondantes. Ce manuel s'adresse plutôt aux directeurs et chefs de laboratoire, aux responsables de programmes de sécurité biologique et aux spécialistes de cette discipline en vue de les informer et de les aider à répondre aux exigences minimales auxquelles doivent satisfaire les laboratoires ou réseaux de laboratoires qui effectuent des examens et des analyses en rapport avec le diagnostic de la tuberculose.

L'évaluation du risque est un exercice qui consiste créer les conditions propices à sa prise en compte et à définir de bonnes pratiques de sécurité biologique au laboratoire en s'appuyant sur l'ensemble des techniques d'analyse, des compétences professionnelles et des installations propres à chaque laboratoire. C'est au niveau de chaque laboratoire que cette évaluation peut être faite dans les meilleures conditions, mais cela n'est pas

toujours possible, notamment pour les milliers de laboratoires périphériques qui pratiquent des examens à risque relativement faible dans des pays où la charge de la tuberculose est élevée et dont les possibilités d'assistance et de supervision au plan local sont limitées. Le présent manuel formule des recommandations pratiques à l'intention des réseaux de laboratoires de la tuberculose et se concentre sur certains types de tests : examen microscopique, cultures, test de pharmacosensibilité et analyses moléculaires.

Processus d'élaboration du manuel de sécurité biologique

Ce manuel de sécurité biologique pour les laboratoires de la tuberculose est une adaptation de la troisième édition du Manuel de sécurité biologique en laboratoire publié par l'OMS². Son contenu reflète d'une part, les conclusions d'une consultation technique qui s'est tenue entre l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) et les Centers for Disease Control and Prevention des États-Unis (CDC) (septembre 2008) complétées par celles de la réunion d'un groupe d'experts sur la sécurité biologique pour la partie correspondant aux techniques de diagnostic de la tuberculose au laboratoire (avril 2009) et d'autre part, l'avis unanime exprimé lors d'un examen externe indépendant (août 2011).

L'ouvrage vise essentiellement à répondre aux besoins particuliers des programmes de lutte antituberculeuse et à faciliter la mise en place de mesures efficaces de sécurité biologique adaptées aux divers niveaux des laboratoires de la tuberculose. Cela étant, il faut le consulter en parallèle avec le *Manuel de sécurité biologique en laboratoire* de l'OMS car ce dernier porte sur les aspects généraux de la sécurité biologique au laboratoire, tels que la manipulation de produits chimiques dangereux qui ne sont pas propres aux laboratoires de la tuberculose, les risques d'incendie et autres types de risque, le transport de substances infectieuses et la formation.

La réunion du groupe d'experts

L'OMS a réuni un groupe d'experts à Genève (Suisse). Seuls les participants qui avaient assisté en personne à la réunion ont pris part à la discussion initiale et aux discussions ultérieures au cours desquelles des recommandations ont été formulées. Les personnes invitées à participer aux travaux de ce groupe ont été choisies de manière à représenter de manière équilibrée les différents points de vue à prendre en considération pour formuler des recommandations en matière de sécurité biologique portant spécifiquement sur la tuberculose. Parmi les membres de ce groupe figuraient des experts techniques, des utilisateurs finaux, des fabricants de postes de sécurité microbiologique et des spécialistes de la sécurité biologique (la liste de ces personnes figure à l'annexe I).

Déclarations d'intérêts

Les membres du groupe d'experts ont rempli des déclarations d'intérêts. Leurs réponses figurent à l'annexe II. Ces déclarations ont été examinées par le Service juridique de l'OMS préalablement à la réunion et elles ont été rappelées succinctement par le président du groupe au début de celle-ci. Il a été constaté que les représentants de deux entreprises (Peter van't Erve et Scott Kreitlein) avaient des conflits d'intérêts

non négligeables, aussi a-t-il été décidé de les faire siéger en tant qu'observateurs : ils n'ont participé à la formulation d'aucune des recommandations qui figurent dans le présent manuel.

Examen externe par des pairs

Un examen technique externe du présent manuel a été organisé au siège de l'OMS. On s'est efforcé de répondre aux préoccupations des divers partenaires et il en a été tenu compte dans la rédaction du manuel. La liste des personnes qui ont participé à cet examen externe par des pairs figure à l'annexe III.

Justification et processus

La décision de s'écarter des recommandations précédentes est justifiée dans la section suivante. Par ailleurs, des encadrés portant le titre "Recommandations du groupe d'experts" ont été ajoutés au texte pour expliquer sur quels points et pour quelles raisons les présentes recommandations diffèrent de celles du *Manuel de sécurité biologique en laboratoire* de l'OMS.

Le processus de synthèse des données factuelles et d'élaboration des présentes directives a été passé en revue et approuvé par le Comité OMS d'examen des directives¹ en mai 2012. Le manuel sera revu en 2017.

En quoi le présent manuel diffère-t-il de la troisième édition du *Manuel de sécurité biologique* en laboratoire de l'OMS?

Évaluation des risques liés à certaines manipulations dans les réseaux de laboratoires de la tuberculose

Le *Manuel de sécurité biologique en laboratoire* de l'OMS² recommande que chaque laboratoire effectue ses propres évaluations des risques afin de déterminer quelles sont les modes opératoires, les méthodologies et les précautions qui conviennent. Le présent manuel considère la question d'un autre point de vue en ce sens qu'il formule des recommandations pratiques basées sur les techniques de laboratoire propres au diagnostic de la tuberculose et qui sont habituellement utilisées aux différents niveaux des services qui s'occupent de cette maladie. Ces recommandations doivent servir de guide aux laboratoires de référence pour la tuberculose qui gèrent des réseaux nationaux ou régionaux de laboratoires de la tuberculose afin de les amener à mieux comprendre les risques liés à certaines manipulations ; sur la base de ces recommandations, les laboratoires nationaux de référence devraient être à même de mettre en pratique des mesures de sécurité biologique appropriées dans les installations voulues et veiller à ce que les divers tests habituels de diagnostic de la tuberculose soient effectués par un personnel convenablement formé.

Dans nombre de situations où faiblesse des ressources et forte charge de travail vont de pair, on ne dispose pas des compétences suffisantes en matière de sécurité biologique pour que les programmes nationaux puissent effectuer une évaluation des risques pour tous les laboratoires. Dans le souci d'aider ces programmes, on a adopté une démarche fondée sur la consultation et la recherche d'un consensus pour évaluer les risques auxquels les laboratoires de la tuberculose travaillant dans ces conditions sont habituellement exposés et établir les critères minimaux à respecter pour que les tests de diagnostic de la tuberculose soient effectués dans de bonnes conditions de sécurité.

Normes utilisées pour l'élaboration des directives

En 2008, le Comité européen de normalisation a publié la norme intitulée "laboratory biorisk management standard CWA 15793"³ qui met en lumière les facteurs essentiels à prendre en compte pour mettre en place et faire fonctionner avec succès un système de gestion du risque biologique. Cette norme préconise une démarche fondée sur le risque et ne fait pas appel à des classifications des risques, que ce soit pour les agents biologiques ou la sécurité au laboratoire, ni à des niveaux de confinement tels qu'ils sont décrits dans le *Manuel de sécurité biologique en laboratoire* de l'OMS. C'est à partir des principes qui figurent dans le document CWA 15793 qu'a été élaboré le présent manuel de sécurité biologique et qu'ont été formulées les recommandations relatives aux exigences minimales qui doivent être respectées par les laboratoires de la tuberculose chargés de diagnostiquer cette maladie.

Usage des classifications par groupes de risque

Le *Manuel de sécurité biologique en laboratoire* recommande aux pays d'établir des classifications nationales ou régionales des microorganismes par groupes de risque. L'affectation d'un germe pathogène à un groupe de risque donné peut varier selon la localisation géographique ou la souche à laquelle appartient le germe du fait de différences dans les caractéristiques épidémiologiques de l'agent pathogène au sein d'une communauté ou dans le risque de contracter une infection au laboratoire.

Il importe de bien se rendre compte que les membres du personnel d'un laboratoire peuvent être plus ou moins prédisposés à développer la maladie une fois contaminés par le bacille et que seule une petite fraction des sujets infectés va effectivement tomber malade au cours de leur existence. Les personnes dont l'immunité est réduite, par exemple

du fait d'une infection par le VIH ou d'une grossesse, peuvent courir un risque plus élevé de faire une tuberculose et l'on peut être amené dans ce cas à prendre des précautions supplémentaires.

Il résulte de toutes ces considérations que le présent manuel, conformément aux prescriptions de la norme CWA 15793, ne se base pas sur la classification des risques, que ce soit pour les agents biologiques ou la sécurité au laboratoire, et qu'il n'utilise pas non plus les niveaux de confinement décrits dans le *Manuel de sécurité biologique en laboratoire*.

Désignation d'un niveau de sécurité biologique

Le *Manuel de sécurité biologique en laboratoire* décrit un système de sécurité biologique à quatre niveaux. Ces niveaux de sécurité biologique reposent sur un ensemble de facteurs tenant à la conception et à la construction des locaux, aux installations de confinement, aux équipements, aux pratiques et aux modes opératoires nécessités par le travail sur des agents biologiques appartenant aux divers groupes de risque. On pense souvent à tort que dans le cas d'un microorganisme affecté à un groupe de risque particulier (par exemple au groupe de risque 3), il faut obligatoirement opérer dans un laboratoire de niveau de sécurité biologique comparable (c'est-à-dire un laboratoire de niveau 3) pour pouvoir travailler dans de bonnes conditions de sécurité. En fait, un niveau de sécurité supérieur ou inférieur peut se révéler plus approprié selon le type de manipulation effectué et un certain nombre d'autres facteurs (voir le chapitre 1 du présent manuel).

Le *Manuel de sécurité biologique en laboratoire* précise que la détermination du niveau de sécurité biologique exigé par une manipulation donnée consiste à apprécier le risque "en professionnel" plutôt que d'adopter automatiquement le niveau de sécurité biologique correspondant au groupe de risque auquel appartient l'agent pathogène en cause. La démarche adoptée dans le présent manuel se fonde sur les recommandations du *Manuel de sécurité biologique en laboratoire* et préconise d'évaluer le risque en fonction de la manipulation

effectuée. La tuberculose est une maladie infectieuse dont la transmission se fait principalement par voie aérienne⁴. Plutôt que d'attribuer tel ou tel niveau de sécurité biologique à une manipulation donnée, ce manuel définit les **exigences minimales** à respecter pour atténuer le risque lié à une manipulation donnée, compte tenu du risque de production d'aérosols, des installations dont on dispose et de l'équipement, des pratiques et des techniques nécessaires pour limiter l'infection.

Atténuation des risques

Utilisation de postes de sécurité microbiologique (appelés aussi enceintes de sécurité biologique)

Les infections contractées au laboratoire sont souvent imputables à des aérosols infectieux porteurs de bacilles tuberculeux dont la production est passée inaperçue. Dans le cas des laboratoires qui effectuent des tests de diagnostic de la tuberculose, le danger (ou le risque) le plus important tient à la production d'aérosols infectieux car c'est précisément par inhalation de tels aérosols qu'une infection par *Mycobacterium tuberculosis* peut être contractée, encore que la manipulation de liquides contenant ce bacille puisse également conduire à une infection par inoculation ou ingestion directes. La manipulation de liquides contenant des bacilles tuberculeux peut également produire des aérosols infectieux. Les noyaux de condensation qui se sont déposés sur des surfaces ne sont pas réaérosolisés et ne sont plus considérés comme infectieux^{5, 6, 7}. Cela signifie que *M. tuberculosis* est généralement transmis uniquement par voie aérienne et non par contact avec des surfaces⁸.

Il y a deux facteurs importants à prendre en considération lorsqu'on évalue le risque d'aérosolisation, à savoir la charge bacillaire du matériel biologique que l'on manipule et la production d'aérosols à partir de ce matériel. Dans le cas des expectorations (qui sont les échantillons les plus couramment utilisés pour le diagnostic de la tuberculose), la charge bacillaire va de 0 (jusqu'à 90 % des échantillons) à 10^3 - 10^4 /ml pour un échantillon donnant un frotis faiblement positif et à 106/ml pour un degré de positivité égal à 3+⁹. Dans une culture obtenue

à partir d'échantillons d'expectorations, la charge bacillaire peut dépasser 10^8 /ml. En raison de la viscosité de ces échantillons, la probabilité de produire un aérosol infectieux lors de leur manipulation est beaucoup plus faible que lorsqu'on manipule une culture liquide. Par conséquent, le risque encouru en travaillant directement sur un échantillon d'expectorations est sensiblement moindre qu'en manipulant une culture obtenue à partir de ce matériel.

Le présent manuel s'écarte du *Manuel de sécurité biologique en laboratoire* en cela qu'il conclut qu'il n'est pas nécessaire d'utiliser une enceinte de sécurité biologique (un poste de sécurité microbiologique) pour pratiquer l'examen microscopique direct d'un frottis d'expectoration. Le groupe d'experts a admis que les infections par *M. tuberculosis* constituent un risque avéré pour le personnel de laboratoire ainsi que pour d'autres personnes susceptibles d'être exposées à des aérosols produits lors de certaines manipulations. Quant aux risques liés à telle ou telle manipula-

tion en particulier effectuée dans un laboratoire de la tuberculose, les données factuelles restent limitées. Une étude rétrospective menée en Corée¹⁰ montre que pour les techniciens qui examinent directement au microscope des frottis contenant des bacilles acido-résistants (BAR), le risque relatif de contracter la tuberculose comparativement à la population générale est de 1,4 (avec un intervalle de confiance à 95 % de 0,2 - 10,0); ce risque s'est révélé égal à 21,5 (avec un intervalle de confiance à 95 % de 4,5 - 102,5) pour les techniciens qui pratiquent des tests de sensibilité aux médicaments. Le groupe d'experts en a conclu que l'utilisation d'un PSM n'est pas une obligation lorsqu'on effectue l'examen microscopique direct de frottis d'expectorations. Le groupe estime qu'avec une bonne technique microbiologique, cet examen ne présente qu'un faible risque de production d'aérosols infectieux et que par conséquent, il peut être pratiqué sur une paillasse ouverte, pour autant qu'il y ait une ventilation suffisante. Cette recommandation est dans la ligne des indications précédentes^{11, 12}.

1. Évaluation du risque et classification des laboratoires de la tuberculose

1.1 Évaluation du risque pour les laboratoires de la tuberculose : de quoi s'agit-il ?

Le système de classification des niveaux de sécurité biologique (1 à 4) que décrit le *Manuel de sécurité biologique en laboratoire* de l'OMS² donne une idée générale des concepts fondamentaux de la sécurité biologique en vue de l'élaboration de codes de pratique nationaux et internationaux. La difficulté, pour les responsables des programmes de lutte antituberculeuse et le personnel des laboratoires, notamment là où les ressources sont limitées, c'est d'interpréter les différentes affectations à des groupes de risque généraux et les niveaux de sécurité correspondants pour pouvoir en déduire ensuite quelles seront les précautions particulières qu'il faudra prendre tenu des activités exercées dans le pays. De ce fait, en rapportant les besoins des laboratoires aux quatre niveaux de sécurité biologique, on a jeté la confusion dans l'esprit des utilisateurs quant à la nature des précautions nécessaires.

Pour décider quelles sont les mesures de sécurité biologique les plus appropriées dans un laboratoire donné, il faut s'appuyer sur une évaluation des risques liés aux divers types de manipulations qui y sont effectuées. Ces évaluations demandent beaucoup de discernement : d'un côté, la sous-estimation des risques peut être une source de dangers de nature biologique, mais d'un autre côté, un excès de rigueur dans la mise en place de garde-fous par rapport aux besoins réels risque de constituer un fardeau inutile – tant sur le plan financier qu'en termes de ressources humaines – pour le personnel et la direction du laboratoire.

Pour procéder à l'évaluation des risques, on prend en compte les facteurs suivants :

- la charge bactérienne du matériel biologique (par exemple des échantillons d'expectorations et des cultures) et la viabilité des bacilles tuberculeux ;
- la voie de transmission de la tuberculose ;
- l'éventualité d'une production d'aérosols infectieux par le matériel biologique manipulé et les manipulations que nécessite chaque type d'examen ;
- le nombre de manœuvres effectuées pour chaque type d'examen et qui sont susceptibles de produire des aérosols ;
- la charge de travail du laboratoire et de chaque membre du personnel ;
- la localisation du laboratoire ;
- l'épidémiologie de la maladie et la population de patients desservie par le laboratoire ;
- le niveau d'expérience et de compétence des techniciens du laboratoire ;
- l'état de santé des membres du personnel (notamment les techniciens séropositifs pour le VIH).

En outre, il faut prendre en considération l'aptitude du personnel du laboratoire à maîtriser les dangers. Cette aptitude va dépendre de la compétence et de la qualification technique de tous les techniciens du laboratoire ainsi que de leurs pratiques sur le plan microbiologique, du bon fonctionnement des équipements de confinement, des dispositifs de sécurité du laboratoire et enfin de l'existence de modes opératoires normalisés et de leur utilisation à bon escient. L'*encadré 1* donne des détails sur la manière de procéder à une évaluation des risques liés à certaines manipulations. Les *tableaux 1* et *2* récapitulent les diverses considérations qui interviennent dans l'évaluation des risques présents dans les laboratoires de la tuberculose en général ainsi que les risques liés à l'exécution de divers examens par ces laboratoires. C'est sur ces considérations que s'est fondé le groupe d'experts pour déterminer les exigences minimales en matière de sécurité

biologique qui doivent être respectées lors de l'exécution de divers examens par les laboratoires de la tuberculose.

Il incombe au chef de laboratoire de veiller à ce que les mesures de sécurité minimales indiquées dans le présent manuel soient prises avec des modes opératoires, des équipements et des installations convenables en soutien aux activités qui sont menées. Les mesures de sécurité biologique qui sont appliquées au sein du laboratoire doivent faire l'objet d'un examen périodique et être revues si nécessaire, en particulier lors de l'introduction de nouveaux tests ou modes opératoires.

Pour que les travaux du laboratoire puissent être exécutés dans les meilleures conditions de sécurité possibles, il faut que le résultat de l'évaluation des risques impose le type de matériel, d'équipements de laboratoire et d'équipements de protection individuelle ainsi que les particularités techniques des installations qui devront être pris en compte dans les modes opératoires normalisés applicables à chaque examen effectué.

1.2 Identification des dangers

On entend par danger tout ce qui est susceptible de causer un dommage, quelle qu'en soit

la probabilité de survenue. Il peut s'agir d'une situation de nature physique (par exemple un incendie ou une explosion), d'une activité (par exemple un pipetage) ou d'une substance (par exemple un aérosol contenant des bacilles infectieux). Tant qu'il n'y a pas d'identification effective des dangers, il n'est pas possible d'évaluer avec exactitude les risques liés à une structure et à ses activités.

1.3 Détermination des risques

Le risque se définit comme la probabilité de voir un danger se concrétiser, associée aux conséquences dommageables d'un événement lié à ce danger. Les risques doivent être identifiés et classés par catégories et il faut également déterminer quels sont ceux qui doivent être maîtrisés ou réduits au minimum. L'analyse des risques d'aérosolisation qui est exposée dans le présent manuel a conduit à définir les exigences minimales en matière de sécurité biologique qui doivent être respectées dans les laboratoires de la tuberculose lors de l'exécution des divers examens.

Encadré 1. Comment effectuer une évaluation du risque lié à une manipulation dans un laboratoire de la tuberculose

L'évaluation du risque est un exercice subjectif qui nécessite de prendre en considération les aspects caractéristiques du danger que représentent les microorganismes et les manipulations dont il font l'objet : parfois, l'appréciation que l'on en a repose sur des informations incomplètes. Évaluer un risque consiste simplement à examiner avec soin ce qui, dans la tâche que vous accomplissez, est susceptible de causer un dommage aux personnes ; cette évaluation vous permet de voir si vous avez pris suffisamment de précautions ou si vous devez en prendre encore davantage pour éviter tout dommage¹³. Le personnel du laboratoire et les autres personnes ont le droit d'être protégés contre les dommages résultant de l'absence de mesures raisonnables pour maîtriser les risques. Il n'y a pas de méthode type pour effectuer une évaluation du risque, mais on pourra s'inspirer de la démarche suivante pour procéder à cet exercice.

1. **Identifier les dangers intrinsèques.** Les dangers que représentent les bacilles tuberculeux pour les individus ou la communauté varient selon les différentes souches. Les souches pharmacorésistantes et notamment les souches multirésistantes (MDR)^a ou ultrarésistantes (XDR)^b font courir un risque plus important car en cas de contamination d'une personne, les dommages seront plus graves du fait que les traitements peuvent être limités ou moins efficaces. Les laboratoires qui travaillent sur des souches qui ont plus de chances d'être pharmacorésistantes, soit en raison d'un tri sélectif des patients, soit en raison des conditions épidémiologiques locales, doivent envisager de se montrer plus exigeants sur le niveau de précaution.
2. **Déterminer quels sont ceux qui pourraient subir des dommages et de quelle manière.** Le principal risque lié à une manipulation effectuée dans un laboratoire de la tuberculose tient à la production d'aérosols susceptibles d'être inhalés par le personnel du laboratoire. Cette production d'aérosols est liée à la pratique de certains examens et elle peut dépendre de la fréquence des tests ou de la charge de travail, de la consistance du matériel biologique et de sa tendance à l'aérosolisation (différente, par exemple, selon qu'on a affaire à un liquide visqueux ou à un solide sec), de la charge bacillaire du matériel biologique et de la viabilité des bacilles. Il faut également avoir conscience que, parmi le personnel du laboratoire, certains peuvent être plus ou moins sensibles à la tuberculose. Les sujets dont l'immunité est réduite – par la prise de certains médicaments, une infection par le VIH ou une grossesse – peuvent être davantage exposés à contracter la tuberculose. S'il y a des personnes immunodéprimées parmi le personnel, elles doivent consulter un médecin du travail connaissant bien la tuberculose.
3. **Évaluer les risques et décider des précautions à prendre**
 - a. **Déterminer si la structure du laboratoire est adaptée.** La détermination définitive du niveau de risque approprié et de toute mesure supplémentaire de précaution qui pourrait se révéler nécessaire nécessite une connaissance exhaustive de ce qui est pratiqué dans le laboratoire, des équipements de sécurité et des mesures de protection existants. Si l'évaluation des risques indique qu'il y a lieu de modifier les mesures de protection prescrites pour le niveau de risque considéré, il faudra qu'un spécialiste de la protection contre les risques biologiques agissant à titre d'expert indépendant confirme cette appréciation et donne au chef de laboratoire les informations et conseils nécessaires avant de procéder au renforcement des barrières de protection secondaires.

b. **Évaluer la capacité du personnel à adopter des pratiques sécurisées.** La protection du personnel du laboratoire et des autres personnes qui travaillent dans la structure dépend en fin de compte du personnel lui-même. Lors de son évaluation des risques, le chef de laboratoire doit s'assurer que son personnel a bien acquis les compétences requises pour de bonnes pratiques microbiologiques et l'utilisation de l'équipement nécessaire à la manipulation d'un matériel biologique potentiellement infectieux dans de bonnes conditions de sécurité. Il faut en outre que le personnel ait pris l'habitude de maintenir un niveau constant d'excellence dans l'exercice de ces pratiques. En s'assurant qu'un technicien de laboratoire est compétent, qu'il a l'expérience de la manipulation d'agents infectieux, qu'il sait recourir aux techniques d'asepsie et utiliser un poste de sécurité microbiologique (PSM) et qu'il est en mesure de faire face à une situation d'urgence tout en étant en outre désireux d'assurer sa propre protection et celle de ses collègues, on pourra être sûr que celui-ci sera capable de travailler dans de bonnes conditions de sécurité.

c. **S'assurer du bon état des équipements de sécurité.** Le chef de laboratoire doit veiller à la disponibilité des équipements de sécurité nécessaires, s'assurer que le bon fonctionnement de ces équipements a été certifié par un professionnel qualifié et que leur bon état est contrôlé périodiquement. Si, par exemple, un PSM n'a pas été soumis à une telle certification, il peut représenter un risque sérieux pour le personnel qui l'utilise et les autres techniciens du laboratoire. De plus, il faut former le personnel à effectuer de contrôles quotidiens simplifiés pour s'assurer que les équipements du laboratoire fonctionnent correctement. Il faut par exemple qu'il vérifie que les bouchons des godets des centrifugeuses ne sont pas fendillés et que les joints toriques sont bien en place et intacts. Des contrôles simplifiés doivent être effectués quotidiennement sur les PSM afin de vérifier que l'air s'écoule correctement dans chaque enceinte.

4. **Notez vos résultats et tirez en les conséquences pratiques.** Tous les modes opératoires normalisés doivent prévoir l'enregistrement des résultats de l'évaluation des risques et des précautions qui doivent être prises. L'enregistrement des résultats de l'évaluation des risques est la preuve que les contrôles voulus ont été effectués et que l'on a bien identifié les membres du personnel exposés à des risques du fait des examens qu'ils effectuent. On ne peut pas éliminer totalement le danger que constitue la production d'aérosols dans un laboratoire de la tuberculose, mais il faut prendre néanmoins toutes les précautions raisonnables qui permettent de ne laisser subsister qu'un faible niveau de risque.

5. **Revoyez votre évaluation et mettez la à jour si nécessaire.** Les manipulations et les pratiques qui présentent un risque potentiel doivent être revues périodiquement; cela doit constituer un protocole habituel destiné à encourager et à garantir l'adoption de pratiques de laboratoire qui soient sûres. Les mesures de sécurité biologique qui sont déjà prises doivent être revues au moins une fois par an; il faut les réviser si cela est nécessaire à la suite de l'évaluation des risques et chaque fois que l'on adopte un nouveau type de manipulation ou une nouvelle technique.

^a MDR-TB: désigne la tuberculose causée par des souches de *Mycobacterium tuberculosis* qui résistent au moins à l'isoniazide et à la rifampicine.

^b XDR-TB: désigne la tuberculose dont le bacille résiste également à une fluoroquinone et à au moins un antituberculeux injectable (amikacine, kanamycine ou capréomycine).

Tableau 1. Facteurs entrant en ligne de compte lors de l'évaluation du risque lié à une manipulation afin de définir les précautions à prendre par les laboratoires qui reçoivent des échantillons en vue du diagnostic de la tuberculose

Facteurs valables pour tous les laboratoires de la tuberculose	Observations
Pathogénicité	Une tuberculose non traitée a un taux de mortalité de 30 à 50 % ; environ 30 % des personnes exposées pendant une longue période à un cas infectieux de tuberculose contractent l'infection ; 5 à 10 % des personnes infectées tombent malades
Voie de transmission primaire	Inhalation de noyaux de condensation infectieux
Voies de transmission secondaires (rares au laboratoire)	Ingestion, inoculation directe
Stabilité	Les bacilles tuberculeux restent viables pendant de longues périodes dans l'environnement
Dose infectieuse	On estime que la dose infectieuse par inhalation est de 10 bacilles chez un sujet humain ^a ; l'expérimentation animale montre qu'elle peut aller de 1 à 1 000 germes en fonction de la sensibilité de l'espèce au bacille
Sensibilité des sujets immunocompétents à la tuberculose maladie	5 à 10 % des sujets immunocompétents qui contractent l'infection tombent effectivement malades au cours de leur vie
Sensibilité des sujets immunodéprimés à la tuberculose maladie	5 à 10 % des sujets immunodéprimés qui contractent l'infection tombent malades annuellement
Risque de contracter la tuberculose dans la communauté en situation de forte charge de travail	Risque élevé
Vaccin efficace	Non, pas de vaccin efficace
Traitement efficace contre la tuberculose multirésistante	Oui
Traitement efficace contre la tuberculose multi-résistante	Oui, mais plus difficile à traiter qu'une infection par des souches sensibles
Traitement efficace contre la tuberculose ultra-résistante	Few treatment options

^a Ce chiffre est tiré de l'expérimentation animale.

Tableau 2. Facteurs entrant en ligne de compte lors de l'évaluation du risque lié à une manipulation afin de définir les précautions à prendre lors de l'exécution de certains examens de laboratoire à différents niveaux

Facteurs qui diffèrent selon le type d'examen	Type d'examen ou de laboratoire		
	Examen microscopique direct de frottis d'expectorations	Préparation des échantillons pour une culture	Manipulation des cultures, tests de pharmacosensibilité
Risque relatif (IC à 95 %) de contracter la tuberculose au laboratoire par rapport au risque encouru par des personnels ne travaillant pas en laboratoire ¹⁰	1,4 (0,2–10,0)	7,8 (1,7–34,9)	22 (4,5–102,5)
Charge bacillaire du matériel biologique manipulé	Variable	Variable	Variable
Viabilité des bacilles tuberculeux	Incertaine mais jugée élevée	Cette préparation peut tuer 90 % des bacilles	Élevée
Probabilité pour que chaque manipulation nécessitée par les divers examens ait tendance à produire des aérosols infectieux ^{9,10}	Faible	Modérée	Forte

IC : intervalle de confiance.

En se basant sur leur évaluation des risques liés aux divers examens pratiqués dans les laboratoires de la tuberculose, les membres du groupe d'experts ont défini les exigences minimales à respecter pour assurer la sécurité du personnel chargé d'effectuer les divers tests de diagnostic de la tuberculose. Dans la mesure du possible, chaque laboratoire doit procéder à sa propre évaluation des risques afin de déterminer quelles mesures de précaution supplémentaires sont à prendre pour que les techniciens de laboratoire soient convenablement protégés.

Les recommandations qui figurent dans le présent document sont destinées à inspirer les politiques nationales et visent nullement à remplacer la réglementation nationale existante. Les exigences minimales à respecter pour réduire les risques dans les laboratoires de la tuberculose sont exposées aux chapitres 3, 4 et 5.

1.4 Suivi des risques et des mesures d'atténuation

Le chef de laboratoire devra procéder à des audits réguliers de manière à assurer un suivi des risques et des mesures prises pour les maîtriser. Cela peut se faire en passant en revue les rapports sur les mesures correctives prises à la suite des problèmes constatés antérieurement, en analysant minutieusement les incidents ou les accidents, en prenant des mesures préventives et en veillant à mettre à disposition des ressources suffisantes pour maintenir les précautions au niveau nécessaire. Il est essentiel, pour assurer une amélioration constante des mesures retenues et appliquées, de rassembler des données sur le processus d'évaluation des risques et d'identifier les mesures d'atténuation possibles.

Les événements suivants doivent susciter soit une nouvelle évaluation du risque lié à telle ou telle

manipulation, soit un réexamen d'une évaluation antérieure :

- de nouvelles tâches sont entreprises ou des modifications sont apportées soit programme de travail, soit à l'ordonnement des tâches, ou bien il y a un changement dans le volume de travail ;
- on construit de nouveaux laboratoires ou on modifie les laboratoires existants ou bien encore on installe de nouveaux équipements ;
- de nouvelles dispositions sont prises concernant le personnel (notamment recours à un sous-traitant ou à du personnel temporaire ou bien nécessité de recevoir des visiteurs) ;
- modifications apportées aux modes opératoires normalisés ou à certaines pratiques (par exemple des changements dans les protocoles de désinfection ou de gestion des déchets, dans les équipements de protection individuelle fournis et leur utilisation, ou encore modification des formalités d'entrée et de sortie des locaux) ;
- incident survenu dans le laboratoire (grande quantité de substances répandues) ;
- preuve ou suspicion d'une infection contractée au laboratoire ;
- examen des réactions aux situations d'urgence et des prescriptions relatives aux plans d'urgence ;
- contrôle en cours du système de gestion (par exemple, une fois par an ou selon toute autre périodicité appropriée et fixée à l'avance).

1.5 Programme de santé au travail destiné aux employés

Les programmes de santé au travail destinés aux employés doivent promouvoir la sécurité et la salubrité du lieu de travail. Pour cela, il faut qu'il y ait

le moins d'expositions possible et s'il s'en produit, les détecter et les traiter sans délai ; il importe également de tirer les enseignements des incidents et accidents qui sont survenus afin de renforcer les mesures de sécurité. Une première visite médicale doit être envisagée pour tous les employés avant leur entrée en fonction au laboratoire et il faut prévoir un suivi médical régulier par la suite. Le personnel médical chargé de veiller à la santé au travail des employés du laboratoire doit bien connaître la nature des risques qui peuvent exister dans un laboratoire de la tuberculose et pouvoir obtenir l'avis de spécialistes. Les services médicaux doivent être facilement accessibles afin qu'un bilan clinique puisse être rapidement établi et un traitement approprié institué sans retard.

1.6 Classification des laboratoires de la tuberculose

On peut classer les laboratoires de la tuberculose selon trois niveaux principaux de risque liés aux examens qui y sont pratiqués :

- faible risque de tuberculose ;
- risque modéré de tuberculose ;
- risque élevé de tuberculose (par exemple dans le cas d'un laboratoire de confinement).

La probabilité d'une production d'aérosols est un facteur crucial dont il faut tenir compte pour déterminer le niveau de risque et les mesures à prendre pour atténuer ou maîtriser ces risques. L'examen microscopique direct des frottis d'expectorations, s'il est pratiqué en respectant de bonnes techniques microbiologiques, ne risque guère de produire d'aérosols infectieux et cet examen peut s'effectuer sur une paillasse ouverte, à condition toutefois qu'il y ait une ventilation suffisante. Les directives de l'OMS relatives aux services de laboratoire pour la lutte antituberculeuse^{11,12} contiennent des indications et des recommandations sur la marche à suivre lors d'un examen microscopique direct des frottis d'expectorations.

Les manipulations qui entraînent la liquéfaction des échantillons - comme celles que l'on effectue lors

de la digestion et de la préparation en vue de l'ensemencement des cultures, lors d'un test direct de pharmacosensibilité ou d'un test *line-probe* (LPA) direct – comportent un risque accru de production d'aérosols comparativement à d'autres types d'examen, même en respectant une bonne technique microbiologique ; il faut donc un poste de sécurité microbiologique (PSM) pour pratiquer ce genre d'examen. La manipulation des cultures en vue d'un test indirect de pharmacosensibilité ou d'un LPA oblige à travailler sur de fortes concentrations bacillaires et il y a un risque élevé de production d'aérosols ; ces manipulations nécessitent

l'utilisation d'un PSM dans un laboratoire de confinement. Les activités pertinentes, l'évaluation des risques liés aux manipulations et les précautions minimales indispensables dans les laboratoires des différents niveaux figurent au *tableau 3*.

Le prélèvement d'échantillons d'expectorations sur des patients peut présenter un danger et ne doit pas s'effectuer au laboratoire. On devra prévoir une zone bien ventilée séparée du laboratoire pour le prélèvement des échantillons. Cette zone sera située de préférence à l'extérieur.

Tableau 3. Niveaux de risque, activités correspondantes du laboratoire et évaluation du risque dans les laboratoires de la tuberculose

Niveau de risque du laboratoire ^a	Activités du laboratoire	Évaluation du risque
Risque faible	Examen microscopique direct des frottis d'expectorations ; préparation des échantillons pour l'utilisation un test automatique d'amplification de l'acide nucléique (par ex. le test Xpert MTB/RIF)	Peu de risque que les échantillons produisent des aérosols infectieux ; faible teneur en particules infectieuses
Risque modéré	Préparation et concentration des échantillons pour l'ensemencement des milieux de culture primaire ; tests directs de pharmacosensibilité (par ex. un test LPA sur des expectorations préalablement préparées)	Risque modéré d'une production d'aérosols infectieux par les échantillons ; faible teneur en particules infectieuses
Risque élevé (Laboratoire de confinement)	Manipulation des cultures en vue de l'identification du germe ; tests de pharmacosensibilité ou test LPA sur des isolements mis en culture	Risque élevé d'une production d'aérosols infectieux par les échantillons ; forte teneur en particules infectieuses

^a Ce niveau de risque traduit la probabilité de contamination d'un membre du personnel par le bacille tuberculeux à la suite d'examens pratiqués dans le laboratoire.

RECOMMANDATION DU GROUPE D'EXPERTS

Le groupe d'experts a fait observer que le Manuel de sécurité biologique en laboratoire de l'OMS² recommande l'utilisation d'une enceinte de sécurité biologique (poste de sécurité microbiologique) chaque fois que l'on manipule des échantillons infectieux. Le groupe d'experts considère que, moyennant une bonne technique microbiologique, l'examen microscopique direct de frottis d'expectorations ne risque guère de produire des aérosols infectieux et que, par conséquent, cet examen peut être pratiqué sur une paillasse ouverte, pour autant qu'une ventilation suffisante puisse être assurée. Cette recommandation est dans la ligne des directives antérieures.^{11,12}

2. Mesures essentielles de sécurité biologique pour les laboratoires de la tuberculose

Tous les laboratoires de la tuberculose, quels que soient les examens pratiqués, doivent prendre un certain nombre de mesures de sécurité biologique qui sont indispensables pour réduire les risques au minimum. Ces mesures concernent :

1. les codes de pratique
2. les équipements
3. la conception et les installations du laboratoire
4. la surveillance sanitaire
5. la formation
6. la gestion des déchets.

En fonction des examens qui sont pratiqués par le laboratoire et les résultats de l'évaluation des risques liés aux manipulations qu'impliquent ces examens, des adjonctions ou des modifications pourront être apportées aux mesures exposées ci-dessous compte tenu des différents niveaux de risque (se reporter aux chapitres 3, 4 et 5 pour plus de précisions).

2.1 Codes de pratique

On entend par code de pratique un exposé des pratiques et des manipulations qui sont indispensables à l'application d'une bonne technique microbiologique (c'est-à-dire une technique sûre). Ce code doit permettre au chef de laboratoire de mettre par écrit la marche à suivre et les modes opératoires à observer pour que les travaux du laboratoire s'effectuent dans de bonnes conditions de sécurité. Ce manuel de sécurité appelé aussi selon les établissements, manuel de prélèvements, manuel qualité, etc. doit également mentionner les dangers avérés ou potentiels et préciser comment il faut procéder pour réduire au minimum les risques qui leur sont liés.

Parallèlement aux équipements spéciaux, il faut toujours utiliser des modes opératoires appropriés et de bonnes techniques microbiologiques, mais les premiers ne pourront jamais remplacer les seconds.

Les principes les plus importants qui doivent figurer dans les codes de pratique sont indiqués ci-dessous.

2.1.1 Accès au laboratoire

- Le signe international de danger biologique et son symbole doivent être apposés sur la porte du laboratoire.
- Seules les personnes habilitées sont autorisées à pénétrer dans les locaux du laboratoire.
- La présence d'enfants n'est pas autorisée dans les locaux du laboratoire et il ne faut pas les y laisser entrer.

2.1.2 Les devoirs du chef de laboratoire

- Il incombe au chef de laboratoire de prendre les dispositions nécessaires pour que soient élaborés et adoptés un système de gestion de la sécurité biologique ainsi qu'un manuel de sécurité (appelé aussi manuel qualité, manuel de prélèvements, etc. selon les établissements) et un ensemble de modes opératoires normalisés.
- Le chef de laboratoire doit également veiller à ce que les membres de son personnel soient formés et à ce que leur aptitude technique à pratiquer les divers examens soit évaluée.
- Le personnel doit être averti des dangers particuliers auxquels il peut être exposé ; il est également tenu de lire le manuel de sécurité ou tout autre manuel remplissant la même fonction) et de se conformer aux pratiques et modes opératoires réglementaires. Le chef de laboratoire s'assurera que tous les membres du personnel ont lu lesdits manuels et veillera à ce qu'ils signent une déclaration attestant qu'ils en ont assimilé le contenu. Le laboratoire devra détenir un exemplaire du tout dernier manuel de sécu-

rité ou autre manuel de ce genre, dont la date de publication devra être indiquée.

- Il est nécessaire qu'il y ait un plan permanent d'entretien/maintenance des installations de chauffage et des systèmes de ventilation, d'aération et de confinement (flux directionnel) pour que ces derniers fonctionnent toujours correctement.

2.1.3 Équipements de protection individuelle destinés au personnel

- Le personnel qui travaille dans le laboratoire doit toujours porter des vêtements de protection. Ces vêtements ne doivent toutefois pas être portés en dehors des locaux du laboratoire (par exemple à la cantine, à la cafétéria, dans les bureaux, à la bibliothèque, au salon du personnel ou dans les toilettes). Les blouses et sarraus de laboratoire ne doivent pas être rangés avec les vêtements personnels. Ceux qui sont propres doivent également être rangés séparément de ceux qui ont été portés. Il faut changer de blouse ou de sarrau au moins chaque semaine, mais éviter de les laver à la maison.
- Les sarraus ou blouses de laboratoire doivent avoir de longues manches avec des manchettes élastiques d'au moins 30 mm de longueur; ils doivent boutonner dans le dos. Le personnel doit disposer de blouses de plusieurs tailles. Des blouses ou sarraus de ce modèle doivent être portées dans tous les laboratoires où il y a un risque important de contamination par le bacille de la tuberculose.
- Les blouses de laboratoire ordinaires sont généralement à manches longues et boutonnent devant. Ce modèle de blouse doit également exister en plusieurs tailles pour le personnel du laboratoire.
- Des gants doivent être portés pour tous les examens qui impliquent un contact direct – ou pourraient entraîner accidentellement un

contact – avec des expectorations, du sang, des liquides organiques ou tout autre matériel biologique potentiellement infectieux. Après usage, l'opérateur doit se déganter aseptiquement et se laver les mains.

- Il faut se laver les mains après toute contamination manifeste, après toute manipulation de matériel biologique infectieux et chaque fois que l'on quitte la zone de travail du laboratoire. Il faut se savonner soigneusement les mains et les frotter énergiquement pendant au moins 15 secondes, puis les rincer à l'eau claire et les essuyer avec une serviette propre en papier. Il est préférable de disposer de robinets automatiques (à commande non manuelle) mais à défaut, on utilisera une serviette en papier pour fermer le robinet afin de ne pas se recontaminer les mains une fois celles-ci lavées.
- Il est interdit de manger, de boire, de fumer, de se maquiller, d'appliquer des cosmétiques ou de manipuler des lentilles de contact à l'intérieur du laboratoire.
- Il est également interdit de conserver de la nourriture ou des boissons dans la zone de travail du laboratoire.
- Le port de chaussures à bout ouvert n'est pas admis au laboratoire.
- L'utilisation de téléphones portables n'est pas admise au laboratoire.

2.1.4 Examens de laboratoire

- Tous les examens doivent être pratiqués de manière à éviter ou à réduire au minimum la production d'aérosols ou de gouttelettes (voir l'encadré 2).
- Le pipetage à la bouche doit être strictement interdit.
- Rien ne doit être porté à la bouche. Toutes les étiquettes utilisées dans le laboratoire doivent être autoadhésives.

- Il faut limiter l'usage d'aiguilles et de seringues et en tout cas ne jamais s'en servir en guise de pipette.
- Tout document écrit susceptible de sortir du laboratoire doit être protégé contre la contamination.
- Tout le matériel contaminé, tous les échantillons et toutes les cultures doivent être convenablement décontaminés avant d'être éliminés ou nettoyés en vue d'une réutilisation.
- Si un d'accident se produit, que des substances sont répandues ou qu'il y a possibilité d'exposition, il faut prévenir le chef de laboratoire. Tout incident de ce genre ainsi que les mesures prises pour y remédier doivent être consignés aux fins d'une action préventive ultérieure.
- Il faut que les modes opératoires normalisés du laboratoire indiquent la conduite à tenir en cas d'incident de ce genre et une formation pratique doit être donnée pour s'assurer que le personnel respecte ces directives et qu'il a acquis les automatismes nécessaires.
- L'emballage et le transport des échantillons doivent respecter la réglementation nationale ou internationale en la matière.
- Il faut élaborer des modes opératoires normalisés et former le personnel afin qu'il soit à même de les suivre. Des manuels expliquant comment pratiquer les examens doivent mis à disposition dans les divers locaux du laboratoire. Les modes opératoires doivent être réexaminés chaque année. Les modes opératoires normalisés doivent préciser comment procéder à l'évaluation des risques et les mesures destinées à les atténuer ou à les maîtriser doivent être définies et appliquées.

Encadré 2. Comment réduire au minimum la production d'aérosols

Le recours à des moyens techniques (par exemple utilisation de postes de sécurité microbiologique [PSM] et ventilation des locaux) ou à des dispositifs individuels de protection respiratoire peuvent être utiles pour éviter de contracter une tuberculose au laboratoire par suite de l'inhalation d'aérosols infectieux. Cela dit, ce qui est le plus important pour diminuer le risque de contamination au laboratoire, c'est de réduire au minimum la production d'aérosols. **Certaines des dispositions pratiques à prendre pour réduire la production d'aérosols valent pour tous les laboratoires de la tuberculose, alors que d'autres ne sont applicables qu'aux laboratoires jugés à risque modéré ou élevé.**

Pour tous les laboratoires

- Lors de la préparation des frottis, il vaut mieux utiliser des bâtonnets de bois ou des anses jetables plutôt que des anses réutilisables qu'il faudra ensuite stériliser à la chaleur.
- Si l'on se sert d'anses réutilisables, il faut les stériliser au moyen d'un microincinérateur fermé ou d'un bec Bunsen. Les anses réutilisables doivent être nettoyées dans un bocal contenant du sable et de l'alcool avant stérilisation.
- Lorsqu'on prépare un frottis en utilisant un bâtonnet ou une anse, il faut opérer lentement et avec douceur afin de ne pas produire d'aérosol.
- Ne pas déplacer un frottis ni le fixer par la chaleur avant qu'il soit complètement séché à l'air.

Pour les laboratoires à risque modéré ou à haut risque

- Ne pas expulser de force un liquide infectieux contenu dans une pipette.
- Ne pas expulser de force l'air d'une pipette dans un liquide potentiellement infectieux.
- Pour ajouter à la pipette un réactif dans un liquide potentiellement infectieux, placer la pipette contre la paroi intérieure du récipient et expulser doucement le réactif.
- Ne jamais détruire une bulle ou une pellicule présentes dans un tube de culture ouvert. Pour éviter cela, on peut remettre le bouchon, tapoter doucement l'extrémité supérieure du tube, le mettre de côté et attendre que les aérosols qui auraient pu se produire se soient déposés avant de redéboucher le tube.
- Lorsqu'on centrifuge un échantillon ou une culture, il faut les placer à l'intérieur d'un pot de sécurité fermé ou utiliser un rotor fermé pour éviter qu'un aérosol ne se répande dans la centrifugeuse et dans le laboratoire. Les pots de sécurité et les rotors fermés doivent toujours être ouverts dans un PSM.
- Lorsqu'on procède au vortexage, à la centrifugation ou à l'agitation d'échantillons ou de cultures il faut placer les récipients à l'intérieur d'un PSM et ne plus y toucher pendant 10 minutes avant de les ouvrir afin de laisser les aérosols se déposer.
- Ne jamais procéder au vortexage d'un tube ouvert ; toujours s'assurer que les bouchons sont solidement vissés avant tout vortexage ou agitation. Ne jamais soumettre à un vortexage des tubes fermés au moyen d'un tampon de coton ou d'un bouchon de caoutchouc.
- Ne pas mélanger ou mettre en suspension du matériel biologique infectieux en remplissant et en vidant plusieurs fois une pipette.
- Après vortexage, laisser reposer les tubes pendant 10 à 15 minutes pour éviter que des aérosols ne se répandent, en particulier s'il s'agit de tubes contenant des bacilles tuberculeux à forte concentration.
- Pour éviter les projections, décanter les liquides en maintenant le tube incliné de manière que le liquide s'écoule le long de la paroi du tube ou jeter le récipient.
- N'introduire que le cône jetable d'une micropipette dans un tube ou autre récipient, ne JAMAIS introduire l'embout porte-cône d'une micropipette.

2.1.5 Zones de travail

- Le laboratoire doit être divisé en zones "fonctionnellement propres" et "zones potentiellement contaminées", les zones propres étant réservées aux tâches administratives et préparatoires. C'est le chef de laboratoire qui doit fixer les conditions d'accès aux zones propres et aux zones contaminées et les faire respecter.
- Le laboratoire doit être bien tenu, en bon état de propreté et on ne doit pas y entreposer des équipements et des produits

qui ne sont pas utilisés pour les travaux habituels. Les équipements et produits qui ne sont pas utilisés ou qui ne fonctionnent pas doivent être évacués des zones de travail.

- Les plans de travail et paillasse doivent être décontaminés chaque fois qu'ils ont été souillés par du matériel biologique potentiellement infectieux ainsi qu'à la fin de chaque séance de travail (pour plus de précisions, voir au chapitre 8 la section consacrée aux substances répandues).

2.2 Équipement

Le choix de l'équipement et du matériel doit tenir compte d'un certain nombre de principes généraux – à savoir qu'il doit :

- être conçu de manière à éviter ou à limiter les contacts entre l'opérateur et le matériel infectieux ;
- être fabriqué à l'aide de matériaux imperméables et résistants à la corrosion ;
- être fabriqué de manière à offrir des surfaces lisses sans angles vifs et sans pièces mobiles non protégées ;
- être conçu, fabriqué et installé de manière à pouvoir être utilisé sans difficulté, à faciliter l'entretien, le nettoyage, la décontamination et les contrôles de certification ; dans la mesure du possible on évitera la verrerie et autres matériaux fragiles.

Outre l'équipement et le matériel propres aux laboratoires correspondant aux différents niveaux de risque (décrits dans les chapitres 3, 4 et 5), on trouvera au chapitre 6 des informations plus complètes sur les PSM/ESB ainsi que des renseignements sur d'autres équipements de sécurité au chapitre 7. Dans les laboratoires où le risque d'infection est considéré comme modéré ou élevé, le confinement primaire des aérosols produits lors de certaines manipulations est assuré par les postes ou enceintes de sécurité microbiologique (ESB/PSM).

2.3 Conception et installations du laboratoire

Un laboratoire bien conçu et bien construit facilite la protection de tout le personnel qui y travaille et constitue une barrière qui protège la communauté contre les aérosols infectieux qui peuvent être produits dans ses locaux. Certains aménagements propres au laboratoire, comme la séparation des différentes zones et la présence d'un système de ventilation correspondent au confinement secondaire. Les dispositifs de protection sec-

ondaires qui sont recommandés dépendent des examens qui sont pratiqués par le laboratoire et du risque de transmission qui leur est lié.

Dans un laboratoire où le risque de tuberculose est faible, ces dispositifs de protection secondaires consistent à séparer les zones de travail des locaux où le public est admis, à assurer une élimination correcte des déchets et à installer des lavabos pour le lavage des mains. Dans un laboratoire à haut risque, l'installation d'un sas entre le laboratoire proprement dit et les locaux d'accueil du public constitue une protection secondaire supplémentaire.

Il incombe au chef de laboratoire de mettre à la disposition de son personnel des installations qui soient à la hauteur des fonctions du laboratoire et en rapport avec son niveau de risque.

Lors de la conception d'un laboratoire de la tuberculose, il faut être particulièrement attentif aux sources habituelles de problèmes : utilisation de surfaces perméables, locaux surchargés, facilité, pour des personnes non habilitées, à entrer dans le laboratoire, circulation du personnel et des patients à proximité ou à l'intérieur du laboratoire et plan de travail mal conçu.

La liste suivante répertorie les aménagements de base qui sont recommandés pour un laboratoire de la tuberculose :

- Nécessité d'une ventilation et d'une circulation de l'air par flux directionnel.
- Les locaux doivent être suffisamment spacieux pour que les examens puissent être effectués dans de bonnes conditions de sécurité et pour faciliter l'entretien et le nettoyage.
- Les murs, les plafonds et les sols doivent être lisses et faciles à nettoyer. Les sols doivent être antidérapants.
- Le revêtement des paillasses doit être imperméable à l'eau et résister aux produits chimiques et aux désinfectants habituellement

- utilisés au laboratoire; il doit également être insensible à une chaleur modérée.
- Toutes les activités doivent bénéficier d'un éclairage suffisant, mais en évitant les reflets indésirables et les éblouissements. Les rideaux sont à éviter.
 - Le mobilier du laboratoire doit être robuste. Il doit être fabriqué avec des matériaux imperméables et pouvoir être facilement décontaminé. Il ne faut pas utiliser de meubles recouverts de tissu.
 - Les espaces libres situés entre et sous les paillasses, les armoires et les différents équipements doivent être accessibles pour en permettre le nettoyage.
 - Il doit y avoir un espace de stockage suffisant pour le rangement des fournitures destinées à un usage immédiat et pour éviter qu'elles ne soient entassées sur les paillasses et dans les couloirs extérieurs au laboratoire. Un local supplémentaire commodément situé hors des zones de travail sera prévu pour le stockage de longue durée.
 - Il faut disposer d'une zone où l'on puisse préparer, manipuler et stocker les acides, les colorants et les solvants.
 - Des locaux pour le rangement des vêtements d'extérieur et des affaires personnelles doivent être prévus en dehors des zones de travail.
 - Des locaux où le personnel puisse se restaurer, boire et se reposer doivent également être prévus en dehors des zones de travail.
 - Dans chaque salle du laboratoire, il faut installer un lavabo avec du savon pour le lavage des mains, de préférence près de la sortie. Il est recommandé de munir ces lavabos de robinets automatiques sans commande manuelle. Un distributeur de serviettes en papier doit être disposé près de chaque lavabo.

- Le laboratoire doit être doté de portes vitrées à manœuvre automatique ayant une résistance au feu suffisante.
- Le laboratoire doit disposer d'une alimentation électrique suffisante et fiable.

2.4 Formation

Des erreurs humaines et une technique médiocre peuvent mettre en échec les meilleurs garde-fous mis en place dans le laboratoire pour protéger le personnel. Il est capital, pour éviter les incidents, les accidents et les infections contractées au laboratoire, que celui-ci dispose d'un personnel bien informé, compétent et soucieux de la sécurité.

Tous les membres du personnel doivent recevoir une formation à la sécurité en laboratoire; il faudra pour cela passer en revue le code de pratique ainsi que les examens, techniques et modes opératoires qui figurent dans le manuel de sécurité. Le chef de laboratoire doit prendre les dispositions nécessaires pour assurer la formation des membres de son personnel et veiller à ce que leur aptitude technique à effectuer les divers examens soit soumise à évaluation. La formation doit toujours inclure des informations sur les modes opératoires sécurisés qui permettent d'éviter ou de réduire au minimum les risques d'inhalation, d'ingestion ou d'inoculation. Elle doit également indiquer au personnel comment décontaminer et éliminer correctement le matériel infectieux.

2.5 Gestion des déchets

La façon de procéder pour éliminer les déchets doit être conforme à l'ensemble des prescriptions et des règlements locaux et internationaux pertinents. Est considéré comme déchet tout ce qui doit être éliminé. Ce qui est primordial pour réduire au minimum les risques liés aux déchets, c'est de décontaminer, d'incinérer ou de préparer pour l'enfouissement ou l'autoclavage l'ensemble des objets souillés et du matériel biologique infectieux. Il faut utiliser des sacs poubelle pour trier les déchets. La majeure partie de la verrerie, des instruments et des vêtements de laboratoire sera réutilisée ou recyclée.

Les principales questions à se poser avant de sortir du laboratoire des objets ou du matériel sont les suivantes :

- Ces objets ou ce matériel ont-ils été efficacement décontaminés ou désinfectés par des moyens appropriés ?
- Si ce n'est pas le cas, ont-ils été emballés dans un conteneur ou dans un sac fermés pour incinération ou autoclavage immédiats sur place ?
- L'élimination du matériel décontaminé comporte-t-elle d'autres dangers ou risques potentiels, de nature biologique ou autre, pour ceux qui effectuent cette opération ou qui pourraient entrer en contact avec ce matériel à l'extérieur du laboratoire ?

L'incinération est un moyen utile pour se débarrasser des déchets de laboratoire, qu'ils aient été décontaminés ou non. L'incinération du matériel infectieux ne peut remplacer l'autoclavage qu'à la condition que le chef de laboratoire soit en mesure de garantir que l'incinération sera effectuée dans les règles.

2.5.1 Incinération

Pour incinérer correctement des déchets dangereux, il faut disposer d'un moyen efficace de réguler la température ainsi que d'une chambre de combustion secondaire. Beaucoup d'incinérateurs, notamment ceux qui ne disposent que d'une seule chambre de combustion, ne permettent pas de traiter de façon satisfaisante le matériel et les produits infectieux, ou les matières plastiques. Si l'on utilise ce type d'incinérateur, ces déchets risquent de ne pas être totalement détruits et l'effluent qui sort de la cheminée peut entraîner une pollution de l'atmosphère par des microorganismes, des substances chimiques toxiques et de la fumée. Il existe toutefois un grand nombre de modèles de chambre de combustion qui donnent satisfaction. L'idéal est d'avoir une température d'au moins 800 °C dans la chambre primaire et d'au moins 1 000 °C dans la chambre secondaire. Pour permettre l'obtention des températures voulues, il faut que les incinéra-

teurs soient bien conçus, correctement exploités et bien entretenus.

Les déchets destinés à être incinérés, même s'ils ont été décontaminés, doivent être transportés jusqu'à l'incinérateur dans des sacs, de préférence en plastique. Le personnel qui va effectuer cette opération doit avoir reçu les consignes voulues pour charger l'incinérateur et régler la température. Pour qu'un incinérateur fonctionne correctement, il faut que le chargement à traiter contienne le bon dosage des différents types de déchets.

Les effets négatifs que l'usage d'incinérateurs pourrait avoir sur l'environnement sont un sujet de préoccupation et l'on s'efforce de rendre ces dispositifs plus écologiques et plus économes en énergie. On peut remplacer l'incinération par un autoclavage.

2.5.2 Autoclavage

Il faut utiliser des autoclaves distincts pour stériliser les solutions ou la verrerie (matériel propre) et pour décontaminer le matériel infectieux.

Le matériel et substances suivantes peuvent passer à l'autoclave :

- instruments, verrerie, milieux ou solutions à utiliser de manière stérile dans un laboratoire pratiquant le diagnostic général de la tuberculose ;
- cultures de mycobactéries à éliminer comme déchets ;
- l'ensemble du matériel infectieux provenant de laboratoires de confinement où des mycobactéries sont cultivées.

Chaque fois que l'on procède à un autoclavage, il faut noter la durée, la température et la pression pour s'assurer que l'appareil fonctionne correctement. On utilisera périodiquement des indicateurs biologiques pour vérifier que l'autoclave stérilise correctement.

2.5.3 Désinfection

L'action destructrice des désinfectants dépend de la population de microorganismes à détruire, de la durée du contact et de la présence de débris organiques.

Les désinfectants commercialisés sous un nom de marque qui sont recommandés pour les laboratoires de la tuberculose sont ceux qui contiennent des phénols, du chlore ou des alcools. On les choisit habituellement en fonction du matériel à désinfecter.

Phénol

Le phénol est à utiliser en solution aqueuse à 5 %. L'exposition par inhalation ou par contact cutané est cependant extrêmement irritante pour la peau, les yeux et les muqueuses. L'ingestion de phénol peut provoquer une intoxication. En raison de son odeur et de sa toxicité, le phénol est généralement remplacé par des dérivés phénoliques.

Les solutions de phénol sont utilisées pour décontaminer les équipements, le matériel et les objets à usage unique avant leur élimination.

Chlore

Le chlore est largement disponible. Les solutions d'hypochlorite de sodium (du genre eau de Javel) contiennent 50 g/l de chlore libre et doivent donc être diluées à 1:50 ou 1:10 pour obtenir une concentration finale de 1 ou de 5 g/litre.

Qu'ils soient sous forme de concentrés ou de solutions plus diluées, ces produits doivent être conservés dans un local bien ventilé, à l'abri de la lumière. Dans de bonnes conditions de stockage, une solution à 50 g/l peut durer jusqu'à 3 mois ; les solutions diluées doivent être préparées journalièrement.

Les solutions d'hypochlorite de sodium peuvent être utilisées comme désinfectants à tout faire et également pour y tremper des objets contaminés non métalliques ; en raison de leur forte alcalinité, elles peuvent corroder les métaux.

Alcools

Les alcools, comme l'éthanol (alcool dénaturé, alcool à brûler) ou l'alcool isopropylique sont utili-

sés en solution à 70 %. Les alcools sont volatils et inflammables et il ne faut pas les utiliser à proximité d'une flamme nue. Ces solutions doivent être conservées dans des récipients appropriés pour éviter toute évaporation. Les flacons contenant des solutions alcooliques doivent être clairement étiquetés afin qu'on ne les passe pas à l'autoclave.

Une solution alcoolique à 70 % peut être utilisée sur une pailasse de laboratoire ou dans un PSM pour la décontamination ordinaire. Le grand avantage des solutions hydroalcooliques, c'est de ne pas laisser le moindre résidu sur les objets traités. En cas de contamination des mains, un rinçage avec une solution à 70 % d'éthanol ou d'isopropanol suivi d'un lavage énergique avec de l'eau et du savon se révèle efficace.

Acide peracétique

L'acide peracétique se caractérise par une action rapide sur les microorganismes. Il a des avantages particuliers : il ne donne pas de produits de décomposition dangereux, il facilite l'élimination des matières organiques et ne laisse aucun résidu. Les solutions de travail (à 2 %) sont stables durant les 48 h suivant leur préparation.

2.6 Modes opératoires pour l'élimination du matériel et objets contaminés

Il faut se doter d'un système pour identifier et trier le matériel biologique infectieux et ses récipients. On peut distinguer plusieurs catégories, par exemple :

- les déchets non contaminés (non infectieux) susceptibles d'être réutilisés, recyclés ou éliminés de la même manière que les déchets ménagers en général ;
- les objets pointus ou tranchants contaminés (infectieux), par exemple la verrerie, les seringues et les lames porte-objet qui sont brisées ;
- Le matériel contaminé infectieux à éliminer par enfouissement, incinération ou autoclavage.

2.6.1 Verrerie et lames porte-objet brisées

Pour l'élimination des lames brisées ou ayant servi il faut utiliser des conteneurs pour objets pointus ou tranchants. Ces conteneurs doivent être imperforables, être munis d'un couvercle ajusté et ne doivent pas être remplis à ras bord. Une fois qu'ils sont remplis aux trois-quarts, il faut les placer dans les conteneurs destinés à recevoir les déchets infectieux et les incinérer. Il ne faut pas les enfouir dans une décharge sauf s'ils ont été incinérés ou passés à l'autoclave. Il ne faut pas réutiliser des lames ayant déjà servi.

2.6.2 Matériel contaminé ou potentiellement infectieux à éliminer

Toutes les cultures qui sont positives pour le bacille tuberculeux doivent passer à l'autoclave avant d'être éliminées. Il doit y avoir un autoclave à l'intérieur ou à proximité du laboratoire où l'on effectue des cultures de bacilles tuberculeux.

Tout le matériel contaminé (c'est-à-dire potentiellement infectieux), à l'exception des objets pointus ou tranchants, doit être placé dans des sacs

jetables en plastique avant d'être amené sur le site d'incinération. Dans la mesure du possible, les déchets provenant de laboratoires de la tuberculose ne doivent pas être enfouis dans une décharge, même s'ils ont été décontaminés.

Des conteneurs, bassines ou cuvettes à déchets incassables (en plastique par exemple) doivent être placés à proximité de chaque poste de travail. Il faut utiliser des désinfectants actifs contre *M. tuberculosis*; les déchets doivent rester en contact avec le désinfectant (c'est-à-dire qu'ils ne doivent pas être protégés par la formation de bulles d'air) pendant la durée voulue, selon la nature du désinfectant utilisé. Ces conteneurs à déchets doivent être décontaminés et lavés avant d'être réutilisés.

Dans les laboratoires où le risque d'infection tuberculeuse est faible, les récipients en plastique pour les expectorations, les cartouches utilisées pour l'analyse moléculaire (par ex. les cartouches pour le test Xpert MTB/RIF) ainsi que les applicateurs en bois doivent être transportés hors du laboratoire dans des sacs poubelle en plastique fermés puis être incinérés.

3. Laboratoires à faible risque

Les recommandations qui sont données dans le présent chapitre correspondent aux exigences **minimales** qu'il faut respecter pour limiter ou réduire les risques d'infection dans les laboratoires qui effectuent des examens considérés comme comportant peu de risque de propagation de la tuberculose. Des mesures supplémentaires pourront être jugées nécessaires après une évaluation des risques propres au site.

Les laboratoires à faible risque qui respectent les mesures minimales de sécurité biologique exposées dans le présent chapitre peuvent pratiquer dans de bonnes conditions de sécurité un certain nombre d'examens sur des échantillons d'expectorations, compte tenu de ce qu'en raison de leur viscosité, ces expectorations n'ont guère tendance à produire des aérosols lorsqu'elles sont manipulées dans le respect des bonnes techniques microbiologiques. Les laboratoires à faible risque peuvent :

- manipuler des échantillons d'expectorations en vue d'un examen microscopique direct ;
- manipuler des échantillons d'expectorations en vue du test XpertMTB/RIF (Cepheid, Sunnyvale Ca., USA)

Lorsqu'on ouvre un récipient contenant des expectorations et que l'on fait directement un frottis avec ces expectorations, il peut y avoir production d'aérosols, mais le risque de transmission lié à ces manipulations est négligeable comparativement à celui que représentent les aérosols produits par une seule quinte de toux non protégée. Selon les données épidémiologiques, il n'est guère prouvé que la préparation directe d'un frottis comporte un excès de risque mesurable de contracter la tuberculose.^{14,15}

N.B. : Le prélèvement d'échantillons d'expectorations sur les patients ne doit pas avoir lieu au laboratoire.

3.1 Facteurs qui accroissent le risque d'infection

Outre les risques généraux justiciables des mesures de sécurité biologique exposées au chapitre 2, les laboratoires à faible risque peuvent également rencontrer les problèmes suivants qui tous peuvent augmenter les risques :

- mauvaise utilisation de l'espace de travail au niveau des paillasse ;
- possibilité de fuites au niveau des récipients contenant les échantillons ;
- manipulation négligente des échantillons pouvant entraîner une aérosolisation ultérieure ;
- agitation énergique des échantillons ;
- ventilation ou éclairage insuffisants.

3.2 Détails particuliers et mesures de sécurité essentielles minimales

Pour faire face à un certain nombre de risques potentiels, tout laboratoire à faible risque travaillant sur la tuberculose doit satisfaire aux exigences suivantes en matière de sécurité biologique^{14,15} :

- 1. Espace de travail :** la paillasse où sont manipulés les échantillons destinés à un examen microscopique direct des frottis d'expectorations ou à un test Xpert MTB/RIF doit être séparée des locaux où arrivent les échantillons ainsi que des locaux où se fait le travail administratif et où se trouvent les téléphones.
- 2. Ventilation :** Les frottis obtenus directement sur des échantillons d'expectorations et la préparation des échantillons en vue d'un test Xpert MTB/RIF peuvent se faire sur une paillasse ouverte dans un local suffisamment ventilé pour autant que de bonnes techniques microbiologiques sont utilisées.

Ce que l'on entend par **ventilation suffisante** pour un laboratoire de la tuberculose correspond habituellement à un flux d'air directionnel avec 6 à 12 changements d'air par heure (voir l'encadré 3). La présence d'un flux directionnel signifie que l'air provenant des zones propres est dirigé vers les zones où il peut y avoir production d'aérosols; cet air doit être évacué en toute sécurité du local. "Le nombre de changements d'air par heure" désigne le nombre de fois par heure où le volume d'air du local est expulsé et remplacé par de l'air propre. Lorsqu'on fait appel à la ventilation mécanique, il est facile de calculer le nombre de changements d'air par heure.

Dans le cas de manipulations à faible risque, la ventilation naturelle devrait suffire pour autant que l'air s'écoule le long de l'espace de travail en entraînant loin du technicien les substances potentiellement infectieuses, puis hors des locaux occupés par le personnel et jusqu'à l'extérieur du laboratoire. Ce flux d'air doit assurer une protection contre les aérosols produits dans l'espace de

travail. Pour que le flux d'air entraîne effectivement les contaminants, il doit se déplacer à au moins 0,5 m/s.¹⁶

On peut assurer la ventilation en ouvrant les fenêtres si du moins le climat local le permet. Si les conditions climatiques interdisent de garder les fenêtres ouvertes, on devra envisager de recourir à la ventilation mécanique qui permet de créer un flux d'air vers l'intérieur sans recyclage dans le local. On ne doit installer de climatiseurs qu'après avoir étudié la direction du flux d'air. Il est important de veiller à ce que l'air du laboratoire circule en s'éloignant des opérateurs.

Lorsqu'en raison des circonstances, il est malaisé d'assurer une ventilation naturelle ou mécanique, on peut opter pour l'installation de postes de travail ventilés ce qui permet de confiner les aérosols produits lors de l'examen microscopique direct des expectorations ou du test Xpert MTB/RIF. Il existe des guides et des spécifications pour les postes de travail ventilés.¹⁷

RECOMMANDATION DU GROUPE D'EXPERTS

Il n'existe pas de normes internationales qui définissent ce que l'on entend par ventilation suffisante d'un laboratoire. Le groupe d'experts a défini de manière pragmatique ce qu'on peut considérer comme une ventilation convenable pour un laboratoire de la tuberculose, à savoir un flux d'air directionnel assurant 6 à 12 changements d'air par heure. Il a fait observer que rien ne prouve qu'un plus grand nombre de changements d'air par heure réduirait le risque d'infections contractées au laboratoire et admis, par ailleurs, que le surcoût d'un système de ventilation de plus grande capacité est très important.

Encadré 3. Comment déterminer la ventilation nécessaire

La ventilation fait pénétrer l'air extérieur dans les locaux du laboratoire et le distribue dans ces locaux. Elle a pour but, par un apport d'air propre, de diluer l'air qui pourrait être contaminé et de l'éliminer du laboratoire. La ventilation comporte trois caractéristiques de base :

le débit – qui représente la quantité d'air extérieur qui pénètre dans le laboratoire par unité de temps;

la direction du flux d'air – à l'intérieur du laboratoire, l'air doit être dirigé de manière à circuler des zones fonctionnellement propres vers les zones sales;

la configuration de l'écoulement d'air – l'air extérieur doit être amené dans chaque zone du laboratoire et être ensuite éliminé avec efficacité.

Il existe trois modes de ventilation d'un laboratoire : la ventilation naturelle, la ventilation mécanique et la ventilation hybride (ventilation mixte).

Ventilation naturelle

Sous l'action des forces naturelles, l'air extérieur pénètre dans le laboratoire en passant par les fenêtres et les portes ouvertes. L'action des forces naturelles permet généralement d'obtenir un débit élevé de manière plus économique et alliée à des grandes ouvertures, elle est susceptible d'assurer un échange rapide de l'air. La question de savoir si la ventilation naturelle convient à tel ou tel laboratoire dépend des conditions climatiques, de la conception du laboratoire et de la façon de travailler du personnel.

Ventilation mécanique

Il est possible d'installer des ventilateurs sur les fenêtres ou les murs ou encore dans des conduits d'où l'air est expulsé du laboratoire. Le type de ventilation mécanique utilisé est fonction du climat. En principe, un système de ventilation mécanique permet d'assurer le débit d'air souhaité en toute fiabilité quelle que soit l'action des vents variables et la température ambiante. La ventilation mécanique peut être utilisée avec un système de climatisation pour réguler la température et le degré d'humidité. Une ventilation mécanique peut également être assurée par un poste de travail ventilé.

Ventilation hybride (ventilation mixte)

La ventilation hybride (ou mixte) fait également appel aux forces naturelles pour assurer le débit d'air souhaité, mais en recourant à un système mécanique lorsque ce débit est trop faible. Lorsqu'il n'est pas souhaitable de se contenter de la ventilation naturelle, on peut installer des ventilateurs d'extraction dans les laboratoires qui pratiquent l'examen microscopique de bacilles acido-résistants afin d'accroître la ventilation. Il faut toutefois veiller à ce que ces ventilateurs soient installés de manière à ce que l'air du local puisse être expulsé directement à l'extérieur, soit à travers un mur, soit à travers le toit. La taille et le nombre des ventilateurs d'extraction dépend du débit que l'on veut obtenir et qu'il faut calculer avant d'opter pour cette méthode (voir l'encadré 4).

3. Réduire au minimum la production d'aérosols:

Lorsqu'on prépare des échantillons d'expectorations en vue d'un examen microscopique direct ou du test Xpert MTB/RIF, il est théoriquement possible qu'il y ait production d'aérosols. Toutefois, comme ces échantillons sont généralement visqueux, l'usage de bonnes techniques microbiologiques permet de réduire au minimum la production d'aérosols. Les récipients contenant ces échantillons (boîtes à prélèvements) doivent être ouverts avec précaution car ils ont pu être secoués pendant leur transport jusqu'au laboratoire. Il ne faut pas prendre le risque de disperser du matériel infectieux en séchant les frottis

à la flamme nue d'un bec Bunsen. Il est préférable de sécher les frottis à l'air et de n'utiliser la flamme que pour fixer les frottis une fois qu'ils sont complètement secs. Pour faire ces frottis, il est préférable d'utiliser des bâtonnets applicateurs en bois ou des anses de transfert.

4. Manipulation des boîtes à prélèvements qui fuient:

Il faut vérifier l'intégrité des boîtes à prélèvements dès leur arrivée au laboratoire. Il faudra peut-être éliminer celles qui fuient et demander un nouveau prélèvement. S'il reste un bon échantillon dans une boîte qui fuit, on pourra décontaminer la boîte avec un désinfectant approprié avant

la préparation. Les échantillons doivent être transportés en position verticale pour qu'il y ait le moins de fuites possibles.

5. Équipements de protection individuelle:

Chaque pays et chaque laboratoire doit évaluer les risques encourus et décider du niveau de protection qui convient pour les différents examens qui sont pratiqués. Des blouses de protection doivent toujours être portées au laboratoire. Il faut également porter des gants pour tous les examens qui

impliquent un contact direct ou qui pourraient entraîner un contact accidentel avec des expectorations, du sang, des liquides organiques ou tout autre matériel potentiellement infectieux. Les gants doivent être changés régulièrement et ne pas être réutilisés. Le personnel doit toujours se laver les mains avant de quitter le laboratoire.

Il n'est pas nécessaire d'utiliser un appareil ou masque respiratoire pendant la préparation des frottis d'expectorations.

Encadré 4. Comment calculer la ventilation qui convient à un laboratoire de la tuberculose utilisant la ventilation mécanique.

On considère généralement qu'une ventilation convenable pour un laboratoire de la tuberculose doit assurer un flux d'air directionnel permettant 6 à 12 changements d'air par heure (CAH). On parle de flux d'air directionnel lorsque l'air circule des zones propres du laboratoire vers celles où il peut y avoir production d'aérosols pour être ensuite expulsé à l'extérieur en toute sécurité. Le CAH représentent le nombre de fois par heure où le volume d'air contenu dans le laboratoire est expulsé et remplacé par de l'air propre. Lorsqu'on utilise une ventilation mécanique, on peut mesurer le CAH en procédant comme suit :

1. localiser la ou les bouches d'extraction ;
2. appliquer contre chaque bouche une feuille de carton comportant une ouverture de 10 cm x 10 cm ;
3. mesurer la vitesse de sortie de l'air à l'aide d'un anémomètre ;
4. calculer le débit volumétrique Q au niveau de chaque bouche d'extraction en utilisant la formule :

$Q = V \times A \times 3600$ dans laquelle :

Q = débit volumétrique en m^3/h

V = vitesse de l'air en m/s

A = aire de l'ouverture en m^2 (par ex. 10 cm [0,1 m] x 10 cm = 0,01 m^2)

3600 = coefficient pour la conversion des secondes en heures

5. faire le calcul pour toutes les bouches d'extraction du local ;
6. mesurer le volume du local

$Vol (m^3) = \text{longueur (m)} \times \text{largeur (m)} \times \text{hauteur (m)}$

7. calculer le CAH

$$CAH = Q/Vol$$

Dans le cas d'une ventilation naturelle, le calcul du CAH donne des chiffres trop variables pour permettre d'évaluer l'efficacité de la ventilation de manière fiable. Il vaut mieux s'en tenir au flux d'air directionnel pour assurer un travail dans de bonnes conditions de sécurité. En faisant en sorte que le courant d'air qui traverse la zone de travail où du matériel infectieux peut être présent, passe devant l'opérateur pour quitter ensuite les locaux occupés par le personnel, on protégera celui-ci contre les aérosols produits dans la zone de travail.

4. Laboratoires à risque modéré

Les recommandations qui sont données dans le présent chapitre correspondent aux exigences **minimales** qu'il faut respecter pour limiter ou réduire les risques d'infection dans les laboratoires qui effectuent des examens considérés comme comportant un risque modéré de propagation de la tuberculose. Des mesures supplémentaires pourront être jugées nécessaires après une évaluation des risques propres au site.

Les laboratoires à risque modéré qui respectent les mesures minimales de sécurité biologique exposées dans le présent chapitre peuvent pratiquer dans de bonnes conditions de sécurité un certain nombre d'examens qui comportent un risque modéré de production d'aérosols à teneur relativement faible en particules infectieuses. Les laboratoires à risque modéré peuvent :

- manipuler des échantillons en vue de les inoculer à un milieu de culture primaire solide ;
- effectuer des tests directs de pharmacosensibilité (par ex. des tests line-probe directs, des tests de pharmacosensibilité par observation microscopique [MODS] ou des tests à la nitrate-réductase sur expectorations préparées [NRA]).

4.1 Facteurs qui accroissent le risque d'infection

Outre les risques généraux justiciables des mesures de sécurité biologique exposées au chapitre 2 (par ex. présence de personnes non habilitées dans le laboratoire, pipettage à la bouche, poste de travail encombré, élimination des déchets qui laisse à désirer) les laboratoires de la tuberculose classés à risque modéré peuvent également rencontrer les problèmes suivants qui tous sont susceptibles d'augmenter les risques :

- le personnel peut travailler dans des locaux mal ventilés ;
- il peut travailler dans de mauvaises conditions d'éclairage ;

- les PSM peuvent être mal entretenus et non certifiés ;
- les PSM peuvent ne pas être dotés d'une bonne évacuation vers l'extérieur ;
- le lieu de travail peut être poussiéreux et il peut y avoir colmatage des filtres à particules de haute efficacité (HEPA) des PSM ;
- une manipulation négligente des échantillons peut entraîner une aérosolisation ;
- le vortex peut être manipulé sans les précautions d'usage (par ex. il peut être utilisé en dehors du PSM) ;
- les conteneurs où sont placés les échantillons peuvent fuir ou se briser pendant la centrifugation
- l'ouverture des godets de centrifugation hors du PSM peut causer des problèmes ;
- les pictogrammes indiquant la présence d'un danger de nature biologiques peuvent être absents et le personnel peut ne pas être suffisamment informé au sujet des personnes à prévenir en cas d'urgence ;
- le système de refroidissement ou de chauffage peut ne pas fonctionner correctement.

De bonnes techniques microbiologiques sont essentielles pour réduire au minimum le risque d'aérosolisation.

4.2 Détails particuliers et mesures de sécurité essentielles minimales

Dans un laboratoire où existe un risque modéré d'infection, le confinement est assuré à deux niveaux : au niveau du PSM (confinement primaire) et au niveau du laboratoire lui-même (confinement secondaire). Pour faire face aux ris-

ques qui sont propres à un laboratoire à risque modéré, il faut prendre les mesures suivantes en vue de les atténuer et de les maîtriser.

1. Postes de sécurité microbiologique (appelés aussi enceintes de sécurité biologique):

Toutes les opérations effectuées sur des échantillons d'expectorations telles que préparation, digestion ou manipulation d'échantillons liquéfiés doivent s'effectuer dans une enceinte de sécurité biologique. Cette enceinte constitue la forme primaire de confinement des échantillons que l'on prépare en vue de les inoculer à un milieu de culture ou de les soumettre à un test direct de pharmacosensibilité. C'est pourquoi le respect de bonnes techniques microbiologiques et un usage correct de l'enceinte sont d'une importance cruciale pour que l'opérateur travaille dans de bonnes conditions de sécurité. En cas de mauvaise utilisation de l'enceinte, des aérosols peuvent se répandre dans le laboratoire (pour plus de précisions sur les PSM/ESB, voir le chapitre 6).

Les PSM doivent être situés à distance des passages, à l'abri des courants d'air traversant le laboratoire depuis l'embrasure des portes et des entrées d'air. L'air qui est expulsé d'une enceinte bien entretenue doit d'abord être passé par un filtre HEPA disposé au sommet de l'enceinte, de manière à pouvoir être rejeté dans le local ou évacué vers l'extérieur au moyen d'un conduit, selon de degré de perfectionnement du système de ventilation installé dans le laboratoire.

Un espace suffisant doit être ménagé entre l'enceinte et le plafond afin de ne pas faire obstacle à la circulation de l'air sortant de l'enceinte.

Il est recommandé d'utiliser des PSM de classe I ou de classe II mais ils doivent de toute façon avoir été conçus par un fabricant certifié et faire l'objet d'un entretien

régulier. Tous les ans au moins, leur bon fonctionnement doit être contrôlé et un certificat doit être délivré. Les PSM de classe II type A2 sont préférables car ils assurent à la fois la protection du personnel et des milieux que l'on inocule (protection du produit).

Les PSM de classe II type B conviennent également mais ils ne sont pas recommandés pour les nouveaux laboratoires de la tuberculose car ils nécessitent des conduits rigides. En outre ils sont plus difficiles à équilibrer, à entretenir et à faire fonctionner correctement. Lorsqu'on utilise des conduits rigides, il faut que le système d'extraction de l'air du bâtiment soit parfaitement adapté aux caractéristiques aérauliques fixées par le fabricant.

Un PSM doit être alimenté par une source de courant ininterrompue et un ventilateur d'extraction est nécessaire lorsque l'alimentation électrique manque de fiabilité ; cette précaution donne au personnel du laboratoire le temps d'achever les manipulations dangereuses qui sont en cours et d'évacuer vers l'extérieur l'air contaminé qui reste à l'intérieur de l'enceinte. Il faut installer des dispositifs anti-retour au niveau des conduits d'évacuation afin d'éviter que de l'air potentiellement contaminé ne soit rejeté dans le laboratoire en cas de panne de courant. Il est utile de disposer d'un générateur de secours pour alimenter les PSM et les autres équipements essentiels tels que les incubateurs et les congélateurs.

2. Ventilation: Outre les PSM (qui constituent la barrière de protection primaire), une barrière de protection secondaire (constituée par le laboratoire lui-même) est assurée en maintenant un flux d'air unidirectionnel à travers le laboratoire et en veillant à ce qu'il y ait au moins 6 à 12 CAH.

Un moyen simple pour créer un flux d'air unidirectionnel consiste à placer un évent

qui permette à l'air de circuler en direction de la zone propre du laboratoire et à faire fonctionner en continu un ou plusieurs PSM munis d'un manchon de raccordement afin d'aspirer l'air vers la zone sale, de l'évacuer du laboratoire et de l'expulser à l'extérieur du bâtiment. Un système de contrôle visuel doté ou non d'une alarme doit être installé de manière que le personnel s'assure à tout moment que l'air circule dans la bonne direction à l'intérieur du laboratoire (voir l'encadré 5).

La pose d'un manchon de raccordement du PSM avec un conduit débouchant à l'extérieur facilite la création d'un flux d'air unidirectionnel et si de l'air contaminé est présent dans l'enceinte, celui-ci est expulsé du laboratoire à travers les filtres HEPA du PSM. Lorsque le PSM est allumé, le ventilateur extérieur évacue l'air de l'enceinte et l'air de la pièce. Lorsque le PSM est éteint, l'air expulsé n'est extrait que de la pièce. On peut installer un ventilateur extérieur dont le fonctionnement soit asservi à celui du PSM (en fonctionnement ou en veille). La meilleure solution consiste à doter le ventilateur extérieur de son propre interrupteur, distinct de celui du PSM, de manière que le ventilateur continue à tourner pendant un certain temps une fois le PSM éteint, de manière que la totalité de l'air expulsé de l'enceinte soit évacuée à l'extérieur. Le grand avantage d'un manchon d'évacuation surmontant le PSM c'est que sa pose ne nécessite aucune modification de l'enceinte et que le sens de circulation du flux d'air de l'intérieur du laboratoire vers l'extérieur est maintenu.

L'autre solution consiste à évacuer dans le laboratoire l'air qui est passé par les filtres HEPA dont le PSM est équipé. Toutefois, en pareil cas, il faut que le bâtiment soit doté d'un système distinct d'extraction de l'air qui assure au laboratoire au moins 6 à 12 CAH. Le système de ventilation du bâtiment doit être conçu de manière à ce que l'air provenant du laboratoire à risque

modéré ne soit pas recyclé dans les autres locaux.

Lorsque l'air émanant du laboratoire est évacué à l'extérieur du bâtiment, il doit être dispersé à distance des bâtiments occupés et des prises d'air.

Dans tout laboratoire de la tuberculose classé à risque modéré ou à haut risque, les fenêtres doivent être constamment fermées.

- **Équipement de protection individuelle:**

Chaque laboratoire doit évaluer ses risques (par exemple en répertoriant ses activités, en évaluant sa charge de travail et en déterminant la prévalence de la tuberculose et celle des souches pharmacorésistantes) et décider quel est le niveau de protection qu'il convient d'assurer au personnel. Des sarraus de protection boutonnant dans le dos et des gants doivent être portés en permanence dans les laboratoires où existe un risque modéré d'infection.

Pendant la préparation des échantillons, ceux-ci sont liquéfiés ce qui accroît le risque d'aérosolisation. Il est donc essentiel de prendre des mesures pour réduire au minimum la production d'aérosols.

Les gants doivent être régulièrement remplacés. Avant de quitter le laboratoire, le personnel doit toujours se laver les mains.

Les appareils ou masques respiratoires ne sont pas nécessaires, pour autant que les échantillons soient manipulés sous un PSM correctement entretenu et dans le respect des bonnes pratiques microbiologiques. Il ne faut pas considérer que ces appareils peuvent se substituer aux PSM.

- **Disposition du laboratoire:** Le laboratoire doit être séparé des espaces du bâtiment où l'on peut circuler librement. Un lavabo pour le lavage des mains doit être installé près de la sortie du laboratoire.

- **Décontamination et élimination des déchets :** Tous les déchets infectieux doivent être évacués du laboratoire à risque modéré en vue d'être éliminés selon les règles. Ils doivent être transportés dans des sacs ou autres conteneurs fermés en plastique conformément à la réglementation locale en la matière. Tout matériel à réutiliser doit être décontaminé au moyen d'un désinfectant approprié ou passé à l'autoclave avant de sortir du laboratoire.
- **Réduire au minimum la production d'aérosols :** la formation du personnel doit toujours comporter des informations sur les techniques de culture qui sont les plus sûres, le but étant d'éviter l'inhalation des aérosols qui sont produits lors de l'utilisation d'anses de transfert, du pipetage, de l'ouverture

des boîtes à prélèvements, de la manipulation de récipients qui sont endommagés ou qui fuient, de la centrifugation ou du vortexage. Pour éviter que du matériel infectieux ne se disperse lorsqu'on utilise la flamme nue d'un bec Bunsen, on utilisera un micro-incinérateur électrique fermé pour stériliser les anses réutilisables. Il est recommandé d'utiliser des anses et des pipettes de transfert stériles qui soient jetables.

Les centrifugeuses doivent être munies de godets de sécurité ou de rotors scellés. Le matériel biologique infectieux peut être centrifugé hors d'une enceinte de sécurité à condition que la centrifugeuse soit dotée de pots de sécurité fermés et que ceux-ci soient remplis et vidés à l'intérieur d'un PSM.

Encadré 5. Comment calculer le nombre de changements d'air par heure (CAH) dans un laboratoire qui utilise un poste de sécurité microbiologique (PSM) doté d'un manchon d'évacuation

- Calculer le volume du local (superficie au sol x hauteur sous plafond).
- Calculer le volume des CAH nécessaire (multiplier le volume du local par 6 pour le nombre minimum de changements d'air et par 12 pour le nombre maximum).
- Déterminer le nombre de PSM et le volume d'air expulsé par chacun d'entre eux. Un PSM de 150 cm de largeur va expulser environ 500 m³ d'air à l'heure (pour une entrée d'air ayant une aire de 1,5 m x 0,2 m et de l'air qui se déplace à 0,38 ou 0,50 m/s on aura un débit horaire de : 1,5 x 0,2 x (0,38 ou 0,50) x 3 600 = 410 à 540 m³/h). Faire ce calcul pour chaque type de PSM utilisé.
- Calculer le débit que devra assurer le ventilateur d'extraction extérieur installé à la sortie du conduit d'évacuation. Il doit être de 30 à 50 % supérieur au débit volumétrique de chaque PSM, pouvoir être réglé et contrôlé et être branché sur une source d'alimentation électrique ininterrompue. L'air qui sort d'un PSM doit être évacué par un conduit de plus de 20 cm de diamètre.

Par exemple, pour un laboratoire ayant une superficie au sol de 5 m x 10 m et une hauteur de 2,5 m sous plafond, il faut pouvoir évacuer entre 750 et 1 500 m³ d'air par heure pour assurer les 6 à 12 changements d'air de la pièce. Avec deux PSM munis de manchons d'évacuation, il serait possible d'évacuer 1 300 à 1 500 m³ d'air par heure.

- Le projet d'installation d'un système de ventilation pour le laboratoire doit être élaboré avec un ingénieur aéraulicien qualifié.

5. Laboratoires à haut risque (laboratoires de confinement pour la tuberculose)

On entend par **laboratoire de confinement pour la tuberculose** une installation qui présente, en matière de construction et d'aménagement, les caractéristiques nécessaires pour assurer la manipulation de cultures de bacilles tuberculeux dans de bonnes conditions de sécurité. Ce genre d'installation peut satisfaire ou non à toutes les exigences auxquelles devrait répondre un laboratoire de sécurité biologique de niveau 3 selon le Manuel de sécurité biologique de l'OMS². Toutes ces installations doivent être conformes à la réglementation locale et nationale.

Les recommandations qui sont données dans le présent manuel correspondent aux exigences **minimales** à respecter pour limiter ou réduire les risques d'infection dans les laboratoires qui pratiquent des examens considérés comme comportant un risque élevé de propagation de la tuberculose. Des mesures supplémentaires pourront être jugées nécessaires après une évaluation des risques propres au site.

Les laboratoires à haut risque (également connus sous la dénomination de laboratoires de confinement pour la tuberculose) qui respectent les exigences minimales en matière de sécurité biologique exposées dans le présent chapitre, sont conçus pour travailler sur des concentrations et des volumes importants de *M. tuberculosis* et pour effectuer des examens qui comportent un risque accru de production d'aérosols. Les laboratoires à haut risque peuvent :

- manipuler des cultures pour l'identification de *M. tuberculosis*.
- manipuler des cultures ou des suspensions de bacilles tuberculeux en vue de leur appliquer l'ensemble des tests indirects de pharmacosensibilité et des tests de biologie moléculaire.

5.1 Facteurs qui accroissent le risque d'infection

Outre les dangers dont il a été question dans le chapitre 4 consacré aux laboratoires à risque modéré et les risques généraux justiciables des mesures de sécurité biologique exposées dans le chapitre 2, les laboratoires classés comme laboratoires à haut risque (ou comme laboratoires de confinement) ont à faire face aux problèmes suivants, qui tous sont générateurs de risques plus importants :

- le personnel doit ouvrir des flacons contenant des cultures positives ;
- le personnel doit préparer des frottis à partir de cultures positives ;
- l'extraction de l'ADN doit être effectuée sur une culture positive ;
- il faut manipuler des cultures pour identifier le germe et faire un test indirect de pharmacosensibilité
- il faut éliminer les récipients brisés contenant des cultures ;
- les cultures ou les zones où du liquide a été répandu doivent être décontaminées.

5.2 Détails particuliers et mesures de sécurité biologique nécessaires

Comme dans le cas d'un laboratoire à risque modéré, il y a deux niveaux de confinement dans un laboratoire à haut risque : le PSM ou ESB (confinement primaire) et le laboratoire lui-même (confinement secondaire).

Dans les laboratoires de la tuberculose classés comme laboratoires à haut risque, toutes les manipulations portant sur des cultures de *M.tuberculosis* viables et des suspensions aqueuses de bacilles tuberculeux destinées à l'identification du germe, à des tests indirects de pharmacosensibilité et à des tests de biologie moléculaire doivent se faire sous un poste de sécurité microbiologique (PSM/ESB) et à l'intérieur d'un laboratoire de confinement.

Outre les mesures de sécurité qui doivent être prises dans un laboratoire à risque modéré, il y a d'autres améliorations à apporter en matière de sécurité biologique dans un laboratoire à haut risque, à savoir :

1. Disposition du laboratoire: Il faut qu'il y ait deux systèmes de portes d'entrée pour créer un sas devant le laboratoire de confinement. Cette disposition permet de créer une barrière physique entre la zone de confinement et les autres zones du laboratoire. Elle permet également d'assurer une circulation unidirectionnelle de l'air qui entre dans le laboratoire.

Le sas doit être équipé de manière à ce que les vêtements de laboratoire qui sont propres soient rangés séparément de ceux qui sont sales. Les portes du sas doivent être automatiques et munies d'un dispositif d'asservissement de manière à ce qu'on ne puisse s'ouvrir qu'une seule porte à la fois. Une vitre à briser peut être installée pour une évacuation d'urgence. L'air peut pénétrer dans un laboratoire de confinement pour la tuberculose en passant par le sas et des grilles munies de pré-filtres peuvent être disposées au niveau des panneaux inférieurs des portes du sas de manière que seul de l'air propre pénètre dans le laboratoire.

Un panneau de verre doit être installé afin que l'on puisse avoir une vue du laboratoire de confinement depuis les zones qui lui sont extérieures.

2. Équipement de protection individuelle:

Chaque laboratoire doit évaluer ses risques et décider quel est le niveau de protection qu'il convient d'assurer au personnel.

Le personnel doit porter des blouses ou sarraus de protection boutonnant dans le dos, qui soient imperméables et dont le devant soit d'une seule pièce. Elles doivent être à manches longues avec des manchettes élastiques (manchettes d'au moins 30 mm de longueur).

Le personnel doit également porter des gants et toujours se laver les mains avant de quitter le laboratoire.

Le port de coiffes, de couvre-chaussures ou de chaussures spéciales est facultatif; on peut les utiliser à titre de mesures de protection complémentaires. Cela étant, aucun vêtement de protection utilisé dans le laboratoire de confinement pour la tuberculose ne doit être porté dans les autres locaux du laboratoire.

Les appareils ou masques respiratoires constituent une protection supplémentaire utilisable lors de manipulations à haut risque – comme la manipulation de cultures liquides en vue de l'identification du germe ou de tests de pharmacosensibilité – qui produisent des aérosols à forte teneur en particules infectieuses. Ces appareils ou masques respiratoires ne sauraient remplacer un PSM défectueux ou qui n'a pas été certifié. En toutes circonstances, de bonnes techniques microbiologiques sont indispensables pour réduire au minimum le risque de contracter une infection au laboratoire.

3. Décontamination et élimination des déchets:

un autoclave doit être disponible à proximité du laboratoire de confinement pour que les tubes et les flacons contenant des cultures de bacilles tuberculeux puissent être stérilisés avant d'être emportés pour être éliminés. Tous les autres déchets infectieux doivent être emportés hors du labo-

ratoire de confinement afin d'être éliminés selon les règles. Ces déchets doivent être transportés dans des sacs ou autres conteneurs fermés en plastique, conformément à la réglementation locale en la matière. Tout

matériel à réutiliser doit être décontaminé à l'aide d'un désinfectant convenable ou passé à l'autoclave avant d'être sorti du laboratoire.

EXPERT GROUP RECOMMENDATION

Dans le Manuel de sécurité biologique en laboratoire de l'OMS², il est recommandé de faire en sorte que les laboratoires de confinement puissent être hermétiquement fermés de manière à permettre une décontamination par fumigation. Le groupe d'experts n'a pas jugé indispensable qu'il en soit de même dans le cas des laboratoires de confinement pour la tuberculose étant donné que les particules infectieuses formées à partir de bactéries qui ont séché sur les différentes surfaces ont peu de chances de s'aérosoliser. Le groupe d'experts en a donc conclu que les procédés de décontamination des surfaces recommandés pour ces laboratoires sont suffisants et qu'il n'est pas nécessaire que ces laboratoires soit aménagés en vue d'une fumigation.

6. Les équipements de sécurité

Ces équipements de sécurité peuvent être utilisés pour éliminer ou réduire certains des risques qui sont présents dans les laboratoires de la tuberculose (Tableau 4). Il n'offrent toutefois aucune garantie de protection si l'opérateur n'est pas compétent et n'utilise pas les techniques qui conviennent. Ils doivent également être régulièrement contrôlés pour s'assurer qu'ils continuent à fonctionner dans de bonnes conditions de sécurité.

6.1 Postes de sécurité microbiologique (appelés aussi enceintes de sécurité biologique)

En raison de leur faible granulométrie, les aérosols constitués de noyaux de condensation qui sont susceptibles d'être produits lors de certaines manipulations peuvent ne pas attirer l'attention de l'opérateur ; il y a donc un risque d'inhalation d'agents infectieux ou de contamination croisée des plans de travail ou du matériel. Ces PSM (ou ESB) sont conçus pour protéger le personnel et l'environnement contre les agents infectieux et, selon leur classification, protègent à des degrés divers contre la contamination des échantillons et des cultures.

Le filtre HEPA qui est monté dans le système d'évacuation d'un PSM constitue un piège efficace contre les microorganismes infectieux de sorte que c'est uniquement de l'air débarrassé de microbes qui sort de l'enceinte. Un filtre HEPA monté dans l'enceinte au-dessus du plan de travail protège la surface de ce plan ainsi que le matériel qui s'y trouve contre toute contamination. On parle souvent de "protection du produit" pour désigner ce système.

Il y a trois classes de PSM : I, II et III (qui correspondent respectivement aux normes AS/NZS 2252.1 : 1994, AS/NZS 2252.2 : 1994 et NSF/ANSI 49-2008).^{18,19,20} D'après la norme NSF/ANSI 49-2008, les PSM de classe II peuvent être de divers types (A1, A2, B1 et B2) qui correspondent à des différences dans le mode d'écoulement et la

vitesse de l'air, la position du filtre HEPA disposé à l'intérieur de l'enceinte, le débit des ventilateurs et les techniques d'extraction.

6.1.1 Choix d'un PSM pour un laboratoire de la tuberculose

Les deux types de PSM qui sont décrits ci-dessous sont ceux qui conviennent le mieux pour les laboratoires à risque modéré et les laboratoires à haut risque (laboratoires de confinement pour la tuberculose).

Classe I

- Les PSM de ce type assurent la protection du personnel et de l'environnement et non celle du produit. Cette absence de protection du produit peut entraîner une contamination accrue, notamment lorsqu'on prépare et que l'on inocule des cultures liquides (voir la figure 1).

Classe II

- Un PSM de classe II assure la protection du personnel, de l'environnement et du produit et dans les modèles de type A2 tous les conduits biologiquement contaminés sont en dépression ou entourés de conduits en dépression (voir la figure 2) (**ce type de PSM constitue LE MEILLEUR CHOIX**).
- Les PSM de classe II type A1 ne sont pas un bon choix car les conduits peuvent être contaminés et la chambre de distribution est en surpression par à la pièce.
- Les PSM de classe II types B1 et B2 doivent être reliés à l'extérieur par un conduit rigide. Cela signifie que le système de ventilation du bâtiment doit répondre exactement aux caractéristiques aérodynamiques tant en ce qui concerne le volume que la pression statique. Il est donc plus difficile de certifier, de faire fonctionner et d'entretenir ces types de PSM, de sorte qu'il ne sont pas recommandés pour les nouveaux laboratoires de la tuberculose.

Les PSM doivent être équipés de filtres HEPA qui répondent aux normes internationales correspondantes (par exemple, la norme européenne EN12469 ou la norme américaine NSF/ANSI49-2008).^{20,21}

En cas de nouvelle acquisition d'un PSM, c'est le modèle de classe II type A2 avec panneau d'observation à guillotine qui est recommandé.

Il faut choisir un PSM en premier lieu en fonction du type de protection nécessaire : protection du produit ou protection du personnel contre le risque d'infection. Choisir le bon type de PSM, l'installer, l'utiliser correctement et le faire certifier chaque année ne sont pas choses faciles. Il est vivement recommandé de confier ces tâches à des professionnels bien formés et expérimentés qui soient familiarisés avec tous les aspects de ces équipements.

Il faut que les PSM soient branchés sur une source d'énergie ininterrompue de manière que si une panne de courant se produit au niveau du secteur alors qu'un examen est en cours, le personnel ait le temps de l'achever.

Les postes de sécurité microbiologique doivent être soumis à un contrôle de certification au moment de l'installation, chaque fois qu'ils sont déplacés ou après une réparation ou un changement de filtre ; ils doivent également être régulièrement entretenus (tous les ans) afin d'en assurer le bon fonctionnement. Retarder cet entretien ou le confier à du personnel insuffisamment qualifié peut comporter des risques pour le personnel du laboratoire (voir la section 6.1.5).

6.1.2 Postes de sécurité microbiologique de classe I

Les PSM de classe I fonctionnent de la manière suivante : l'air de la pièce, aspiré sans filtrage à travers une ouverture frontale, passe au-dessus du plan de travail puis est expulsé à l'extérieur par un conduit d'évacuation.

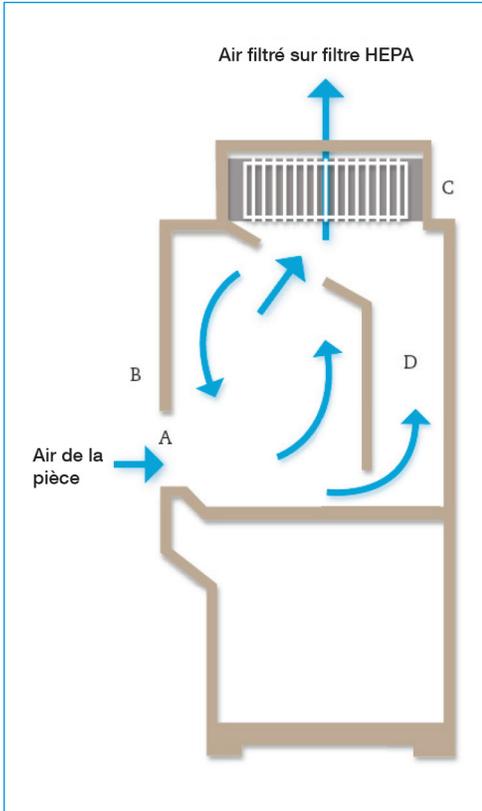
Un PSM de classe I protège l'opérateur mais ne protège pas d'une contamination des produits sur lesquels il travaille (par exemple des échantillons ou des cultures) car de l'air non stérilisé provenant de la pièce est aspiré au-dessus du plan de travail.

La *figure 1* est une coupe schématique d'un PSM de classe I. L'air de la pièce est aspiré par une ouverture frontale à une vitesse minimum de 0,38 m/s (NSF/ANSI)²⁰ ou de 0,4 m/s (EN12469)²¹. Il passe ensuite au-dessus du plan de travail puis est expulsé de l'enceinte par un conduit d'évacuation. Le flux d'air directionnel transporte les particules aérosolisées qui ont pu être produites sur le plan de travail en les éloignant de l'opérateur et les entraîne dans le conduit d'évacuation. Grâce à l'ouverture frontale, l'opérateur peut passer ses bras à l'intérieur de l'enceinte pour atteindre le plan de travail tout en observant ce plan à travers un panneau vitré. Ce panneau vitré peut aussi être complètement relevé, ce qui permet d'avoir accès au plan de travail pour le nettoyer ou pour toute autre raison.

L'air qui sort de l'enceinte est expulsé à travers un filtre HEPA : a) dans le laboratoire puis à l'extérieur du bâtiment par le système d'évacuation de ce dernier ; ou bien b) vers l'extérieur par le système d'évacuation du bâtiment ou encore c) directement à l'extérieur. Le filtre HEPA peut être placé dans la chambre de distribution du PSM ou dans le système d'évacuation du bâtiment. Certains PSM de classe I sont dotés d'un ventilateur intégré alors que d'autres sont tributaires du ventilateur qui équipe le système d'évacuation du bâtiment.

Figure 1. Coupe schématique d'un poste de sécurité microbiologique de classe I.

A: Ouverture frontale; B: Panneau vitré à guilotine; C: Filtre HEPA d'évacuation; D: Chambre de distribution.



6.1.3 Postes de sécurité microbiologique de classe II type A2

La différence entre les PSM de classe II et les PSM de classe I tient au fait que les enceintes de classe II ne laissent passer au-dessus du plan de travail que de l'air qui a traversé un filtre HEPA (air stérile).

La figure 2 est une représentation schématique d'un PSM de classe II type A2. À l'aide d'un dispositif interne d'aspiration, l'air de la pièce est

admis par une ouverture frontale dans l'enceinte puis dans la grille d'aspiration avant. La vitesse de l'air entrant doit être d'au moins 0,38 m/s face à l'ouverture frontale. Après avoir traversé la grille, l'air admis dans l'enceinte est aspiré vers le haut et passe par un filtre HEPA avant de venir s'écouler au-dessus du plan de travail.

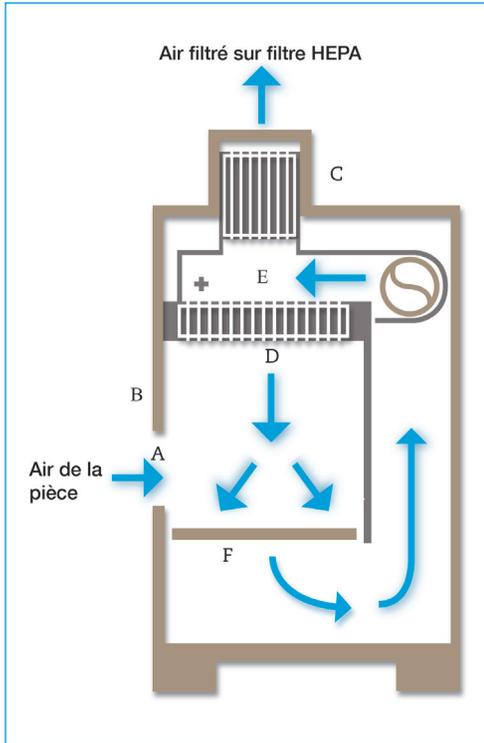
En s'écoulant vers le bas à environ 6-18 cm au-dessus du plan de travail, le flux d'air se divise de manière à ce que la moitié environ du volume d'air passe par la grille d'extraction avant et l'autre moitié par la grille d'extraction arrière. Toutes les particules d'aérosol qui se forment au niveau du plan de travail sont immédiatement piégées par ce courant descendant et entraînées à travers les grilles avant ou arrière, ce qui assure une protection maximale du produit manipulé. L'air s'échappe ensuite par la chambre de distribution située à l'arrière pour aboutir dans l'espace qui se trouve au sommet de l'enceinte, entre le filtre d'admission et le filtre d'évacuation. Compte tenu des dimensions relatives de ces deux filtres, environ 60-70 % de l'air est recyclé à travers le filtre d'admission pour revenir sur le plan de travail; les 30-40 % restants sont rejetés dans la pièce ou à l'extérieur après avoir traversé le filtre d'évacuation.

L'air rejeté par un PSM de classe II, type A2 peut être recyclé dans la pièce ou évacué à l'extérieur du bâtiment en raccordant l'enceinte à une conduite d'évacuation spéciale à l'aide d'un manchon; IL NE DOIT PAS passer par le système d'évacuation du bâtiment.

Dans le cas d'un laboratoire de confinement où l'air rejeté par un PSM de classe II est recyclé dans la pièce, il est nécessaire d'installer un système de ventilation spécial pour assurer un flux d'air unidirectionnel dans le laboratoire avec 6 à 12 changements d'air par heure. Le recyclage de l'air dans la pièce a l'avantage de réduire la facture énergétique de l'établissement car l'air chauffé ou refroidi ne s'échappe pas à l'extérieur.

Figure 2. Coupe schématique d'un poste de sécurité microbiologique de classe II type A2.

A : Ouverture frontale ; B : Panneau vitré à guillotine ; C : Filtre HEPA d'évacuation ; D : Filtre HEPA d'admission d'air ; E : Chambre de distribution en surpression ; F : Chambre de distribution en dépression.



6.1.4 Raccordements par manchon

Il existe des manchons de raccordement ou des hottes (voir la *figure 3*) que l'on peut utiliser avec les PSM de classe II type A2 dotés de conduits d'évacuation vers l'extérieur. Le manchon de raccordement s'adapte sur le boîtier d'évacuation de l'enceinte et permet d'en aspirer l'air pour l'amener jusqu'aux conduits d'évacuation vers l'extérieur. Un petit orifice, généralement de 5 cm de largeur est ménagé entre le boîtier d'évacuation de l'enceinte et le raccord, ce qui permet d'aspirer l'air de la pièce pour l'amener également dans les conduits d'évacuation vers l'extérieur. Le système d'évacuation doit avoir une capacité suffisante pour capter à la fois l'air

de la pièce et celui qui est rejeté de l'enceinte. Le manchon doit être amovible ou tout au moins être conçu pour permettre de contrôler le fonctionnement de l'enceinte. En règle générale, les fluctuations du débit de l'air dans le circuit de ventilation du bâtiment n'ont guère d'influence sur le fonctionnement d'un PSM raccordé au circuit par un manchon de ce genre.

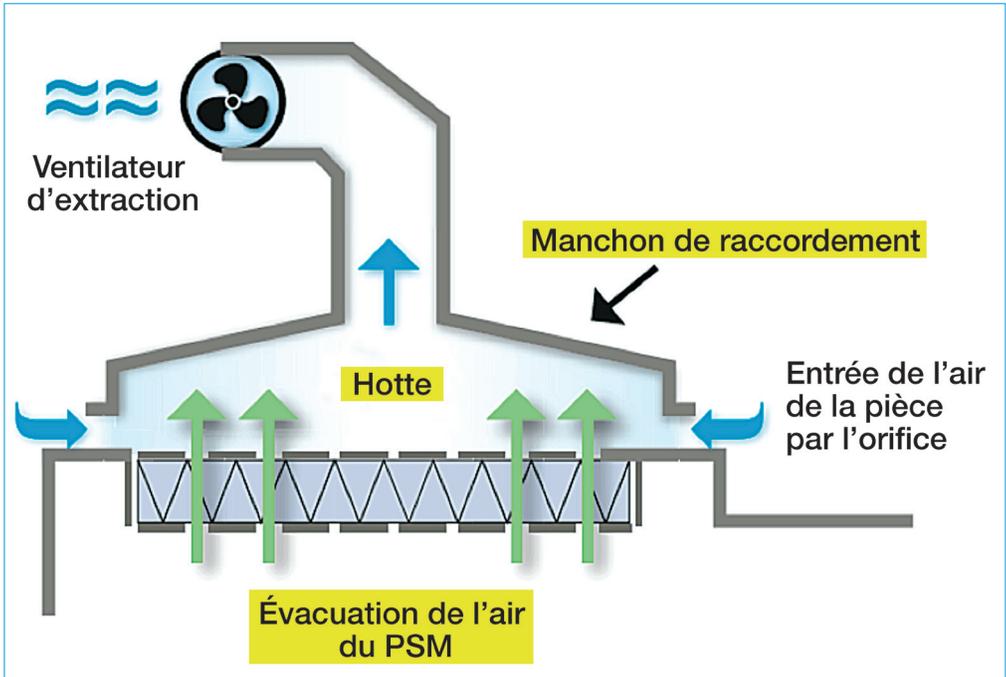
L'un des avantages de ce type de raccordement tient au fait qu'il n'y a aucune modification à apporter au PSM et que la pression va rester à peu près constante dans la pièce. Pour maintenir une pression plus faible, contrôlée et constante dans le local de confinement, il faut habituellement installer un régulateur à clapet dans le système d'évacuation afin que le flux d'air qui traverse le manchon soit compatible avec la capacité d'évacuation du ventilateur d'extraction placé à l'extrémité du conduit. Il y a également un autre avantage, à savoir qu'en cas de panne de courant, l'air qui revient vers la pièce où la pression est plus faible va passer presque exclusivement par la prise d'air du manchon et ne va pas entraîner des bactéries hors du filtre HEPA. En montant un clapet antiretour dans le conduit on oblige le flux d'air entrant à passer par la bouche d'admission d'air propre.

6.1.5 Utilisation des postes de sécurité microbiologique au laboratoire

Emplacement

Il est difficile de maintenir un flux d'air entrant directionnel qui soit satisfaisant car il peut être facilement perturbé par les courants d'air que produisent les personnes qui se déplacent à proximité du PSM, les fenêtres ouvertes, les registres d'admission de l'air ou encore l'ouverture ou la fermeture des portes. Comme le recommandent les fabricants, il faut donc installer les PSM dans des emplacements qui soient éloignés des points de passage et des courants d'air qui pourraient perturber leur fonctionnement. Dans la mesure du possible, il faudrait prévoir un dégagement d'une trentaine de centimètres derrière le poste et sur chacun de ses côtés pour faciliter l'accès en cas d'opérations d'entretien. Il peut également s'avérer nécessaire

Figure 3. Coupe schématique montrant le raccordement direct d'un PSM de classe II type A2 à l'extérieur du laboratoire au moyen d'un manchon et d'une hotte



de prévoir un dégagement d'environ 30 à 35 cm au-dessus du PSM afin que l'on puisse mesurer exactement la vitesse de l'air à travers le filtre d'évacuation et le cas échéant, changer le filtre.

Opérateurs

Si les postes de sécurité microbiologique ne sont pas utilisés correctement, la protection conférée risque d'être considérablement réduite. Dans certains cas, une mauvaise utilisation peut même comporter un risque accru pour l'opérateur. Des protocoles écrits ainsi qu'un manuel de sécurité biologique doivent être mis à la disposition des membres du personnel, lesquels devront signer un formulaire pour confirmer qu'ils ont bien lu et assimilé les protocoles en question. Avant de pouvoir utiliser régulièrement un poste de sécurité microbiologique un opérateur doit d'abord travailler sous surveillance pour que l'on puisse s'assurer qu'il applique un mode opératoire correct. L'opérateur doit veiller à ne pas perturber le flux d'air entrant lorsqu'il passe les bras dans le volume de travail ou les en retire.

Il faut déplacer les bras lentement en avant ou en arrière, perpendiculairement à l'ouverture frontale. Avant de manipuler du matériel dans le volume de travail d'un PSM, il faut attendre environ 2 minutes, une fois que l'on a passé les bras à l'intérieur, pour que le flux d'air s'adapte et vienne balayer la surface des mains et des bras. Il faut également veiller à ne faire qu'un minimum de mouvements à travers l'ouverture frontale en plaçant tous les instruments et objets nécessaires sur le plan de travail avant de commencer la manipulation.

Disposition du matériel

La grille de reprise frontale des PSM de classe II ne doit pas être obstruée par du papier, des appareils ou d'autres objets. Il est recommandé de toujours travailler sur un linge absorbant imprégné de désinfectant pour retenir les projections et les éclaboussures. Tout le matériel doit être disposé aussi loin que possible dans le volume de travail, en se rapprochant au maximum du bord distal du plan de travail,

mais en évitant d’obstruer la grille arrière. Les appareils qui produisent des aérosols (par ex. vortex, centrifugeuses, etc.) doivent être placés vers le fond de l’enceinte. Le matériel encombrant (comme les sacs de sécurité biologique et les conteneurs à déchets) doit être placé sur un des côtés du volume de travail. Sur le plan de travail, il faut travailler en allant des zones propres vers les zones contaminées. Il ne faut jamais introduire de documents dans un PSM. L’enceinte ne doit pas être surchargée car toute surcharge peut réduire l’efficacité du flux d’air (voir la figure 4).

Lampes à ultraviolets

Il n’est pas recommandé d’utiliser des lampes à ultraviolets dans les PSM des laboratoires de la tuberculose.

Flammes nues

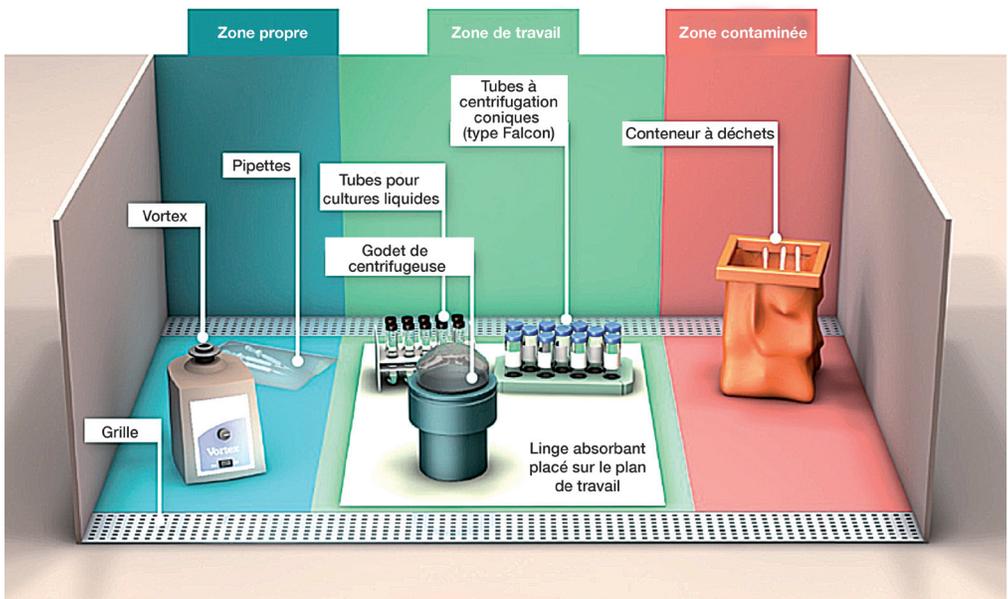
Il faut éviter la présence de toute flamme nue à l’intérieur d’un PSM. En effet, la chaleur des

flammes perturbe la circulation de l’air dans l’enceinte. Pour stériliser les anses bactériologiques, il existe des microincinérateurs et des fours électriques, qui sont préférables aux flammes nues. Il vaut mieux d’utiliser des anses jetables et des pipettes de transfert.

Produits répandus accidentellement

Il faut afficher dans le laboratoire un exemplaire de la conduite à tenir si des produits sont répandus accidentellement et veiller à ce chacun lise et assimile ces instructions. Si un produit est répandu accidentellement dans un PSM, il faut nettoyer immédiatement le volume de travail pendant que l’enceinte continue à fonctionner. On utilisera à cet effet un désinfectant efficace que l’on devra appliquer en s’efforçant de produire le moins d’aérosols possible. Tout ce qui entre en contact avec le produit répandu doit être désinfecté et éliminé convenablement.

Figure 4. Modèle d’agencement du matériel pour travailler sous un poste de sécurité microbiologique de classe II en allant des zones propres vers les zones contaminées. Le matériel propre est placé dans la partie gauche de l’enceinte ; les échantillons sont inoculés au centre de l’enceinte ; quant aux pipettes et autre matériel contaminés, ils sont placés dans des conteneurs à déchets dans la partie droite de l’enceinte. Cet agencement peut être inversé pour les opérateurs gauchers.



Certification

La procédure de certification stipule qu'un contrôle doit être effectué sur chaque PSM pour vérifier qu'il fonctionne conformément aux spécifications nationales et internationales et ne présente pas de défaut. Ce contrôle doit être pratiqué lors de l'installation et lors de tout changement d'emplacement dans le laboratoire, puis périodiquement (au moins une fois par an) par des techniciens qualifiés, conformément aux spécifications du fabricant. Pour évaluer l'efficacité du confinement assuré par un PSM, il faut procéder aux contrôles suivants : intégrité de la structure, présence éventuelle de fuites au niveau des filtres HEPA, paramètres vélocimétriques du flux d'air descendant, vitesse frontale du courant d'air, contrôle manométrique de la dépression, débit des ventilateurs, essai au fumigène pour contrôler le flux d'air, alarmes et asservissement du verrouillage.

La vitesse de l'air qui entre dans l'ouverture frontale d'un PSM doit répondre aux spécifications du fabricant. On peut également effectuer d'autres contrôles (facultatifs) : défauts d'isolation électrique, intensité de l'éclairage, intensité du rayonnement UV, niveau de bruit et vibrations. Une formation, des compétences et des équipements spécialisés sont indispensables pour effectuer tous ces contrôles et ils doivent être exécutés par un professionnel qualifié et familiarisé à tous égards avec les PSM.

Nettoyage et désinfection

Tout ce qui se trouve à l'intérieur du PSM, y compris l'appareillage, doit faire l'objet d'une décontamination en surface et être retiré du volume de travail une fois la manipulation achevée.

Les surfaces intérieures de l'enceinte doivent être décontaminées avant et après chaque utilisation. Les plans de travail et les parois intérieures doivent être passés au désinfectant de manière à tuer tous les micro-organismes présents. À la fin de la journée de travail, on procédera à une décontamination finale consistant à passer au désinfectant le plan de travail, les parois latérales, le fond ainsi que la face arrière du panneau d'observation. Il faudra encore rincer les surfaces

avec de l'eau stérile si on a utilisé un désinfectant corrosif comme l'hypochlorite.

Une fois la manipulation achevée, on laissera encore fonctionner le PSM pendant 15 minutes pour le purger de l'air qu'il contient avant de le débrancher définitivement.

Décontamination

Les PSM doivent être décontaminés à fond avant de changer les filtres ou avant de les déplacer. La décontamination doit également porter sur les chambres de distribution et sur les filtres. Pour la marche à suivre et plus de précisions sur la décontamination, se reporter à la norme NSF/ANSI 49-2008²⁰. La décontamination doit être effectuée par un professionnel qualifié.

Alarmes

Les PSM peuvent être équipés d'un ou deux types d'alarme sonore. Certaines alarmes n'équipent que les PSM dotés d'un panneau d'observation à guillotine. Ces alarmes se déclenchent si l'opérateur place le panneau dans une mauvaise position. Lorsque cette alarme retentit, il faut remettre le panneau correctement en place. Un autre type d'alarme est destiné à avertir d'une perturbation dans la circulation de l'air. Son déclenchement est un signal de danger immédiat pour l'opérateur ou pour le produit. Si cette alarme retentit, il faut interrompre immédiatement la manipulation et prévenir le chef de laboratoire. Le manuel d'utilisation fourni par le fabricant doit indiquer quelle est ensuite la marche à suivre. Lors des séances de formation à l'utilisation des PSM, on devra indiquer comment réagir au déclenchement de ce type d'alarme.

6.2 Centrifugeuses munies de godets de sécurité

Au cours d'une centrifugation, il peut y avoir production d'aérosols. Les règles de sécurité doivent donc être rigoureusement respectées lorsqu'on utilise une centrifugeuse.

Pendant la centrifugation, le couvercle doit être hermétiquement fermé. L'utilisation d'un joint large

fait d'un matériau non poreux permet d'assurer une fermeture hermétique. Il ne faut pas ouvrir la centrifugeuse avant l'arrêt complet du rotor. Un bon rotor possède un système de fermeture sécurisé pour chaque nacelle. Il faut boucher correctement chaque tube et chaque godet avant de mettre en marche la centrifugeuse. Une fois les godets bouchés, il faut procéder à leur chargement et à leur déchargement sous un PSM afin de ne pas laisser échapper d'aérosols. Lorsqu'on travaille sur des cultures de bacilles tuberculeux, il est recommandé d'utiliser une centrifugeuse réfrigérée dotée d'un rotor à godets oscillants.

Lorsqu'on utilise une microcentrifugeuse pour l'extraction de l'ADN, il est nécessaire qu'elle soit équipée d'un rotor de sécurité muni d'un couvercle fermant hermétiquement. La microcentrifugeuse doit être chargée et déchargée sous un PSM.

Les centrifugeuses doivent être périodiquement inspectées à la recherche de traces d'usure ou de dommages ; elles doivent être entretenues conformément aux instructions du fabricant.

6.3 Autoclaves

Dans les laboratoires généraux de la tuberculose où sont pratiqués des examens à visée diagnostique, le moyen le plus efficace pour stériliser les

instruments, la verrerie et les solutions des différents milieux consiste à se servir d'un autoclave utilisant de la vapeur saturée sous pression. On utilise également cet autoclave pour décontaminer le matériel biologique (des cultures de mycobactéries, par exemple). Pour qu'un autoclave fonctionne de manière optimale, il y a deux conditions essentielles à respecter : 1) l'air de la chambre doit être entièrement remplacé par de la vapeur ; 2) la température doit être de 121 °C.

Les autoclaves doivent être installés à distance du laboratoire principal à cause du bruit et de la chaleur qu'ils peuvent générer et également parce qu'ils laissent échapper de la vapeur. Tout autoclave utilisé pour décontaminer du matériel infectieux doit comporter une soupape d'échappement d'air munie d'un filtre bactérien. Ce filtre stérile autoclavable doit être constitué d'une cartouche filtrante à membrane (taille des pores 0,2 µm) placée dans un logement résistant à la pression. Le filtre doit être facile à remplacer. Lors de chaque utilisation, le filtre est stérilisé automatiquement. Dans tout laboratoire où l'on effectue des cultures de bacilles tuberculeux il DOIT y avoir un autoclave et son emplacement idéal est à l'intérieur du laboratoire de confinement.

Les instructions données par le fabricant pour l'utilisation et le nettoyage des autoclaves doivent être respectées en toutes circonstances.

Tableau 4. Équipements de sécurité utilisés pour préparer les échantillons dans les laboratoires de la tuberculose, dangers potentiels et caractéristiques de sécurité correspondantes

Équipement	Danger potentiel ou risque	Caractéristiques de sécurité
Poste de sécurité microbiologique		
Classe I	Aérosols et projections	<ul style="list-style-type: none"> Flux entrant minimal (vitesse frontale) au niveau de l'entrée de l'enceinte, selon les recommandations du fabricant; l'air expulsé passe par un filtre HEPA Bonne protection du personnel et de l'environnement
Classe II	Aérosols et projections	<ul style="list-style-type: none"> Flux entrant minimal (vitesse frontale) au niveau de l'entrée de l'enceinte, selon les recommandations du fabricant; l'air expulsé passe par un filtre HEPA Bonne protection du personnel et de l'environnement
Poste de travail ventilé	Aérosols et projections	<ul style="list-style-type: none"> Ne peut pas remplacer un PSM Flux entrant minimal (vitesse frontale) au niveau de l'entrée de l'enceinte, selon les spécifications Pas de filtre HEPA Protection limitée du personnel
Centrifugeuses avec godets de sécurité ou rotors fermés	Aérosols et projections	<ul style="list-style-type: none"> Confinement des aérosols
Pipetteurs	Risques dus au pipetage à la bouche (par ex. ingestion de germes pathogènes ou inhalation d'aérosols produits par la succion exercée sur la pipette, expulsion de liquide ou chute de gouttes, contamination du bout de la pipette servant à aspirer)	<ul style="list-style-type: none"> Facile à utiliser Prévient la contamination de l'extrémité de la pipette servant à aspirer, protège le pipetteur, l'utilisateur et le circuit de vide Peuvent être stérilisés Pas de fuite par la pointe
Microincinérateurs pour anses, anses jetables	Projections provenant des anses de transfert	<ul style="list-style-type: none"> Protection des anses par un tube ouvert à une extrémité, en verre ou en céramique, chauffé au gaz ou à l'électricité Les anses jetables rendent les microincinérateurs

Équipement	Danger potentiel ou risque	Caractéristiques de sécurité
Récipients étanches pour recueillir et transporter le matériel infectieux à stériliser dans une installation appropriée de l'établissement	Aérosols, produits répandus par suite de renversements ou de fuites	<ul style="list-style-type: none"> • Construction étanche avec couvercle ou autre système de fermeture • Durables • Peuvent passer à l'autoclave
Conteneurs pour objets	Piqûres ou coupures	<ul style="list-style-type: none"> • Peuvent passer à l'autoclave • Robustes, imperforables
Conteneurs pour le transport d'un laboratoire ou d'un établissement à l'autre	Libération de microorganismes	<ul style="list-style-type: none"> • Robustes • Conteneurs primaires et secondaires étanches (antifuites) • Matériau absorbant retenant les liquides
Autoclaves (manuels ou automatiques)	Cultures positives stérilisées avant leur sortie du laboratoire	<ul style="list-style-type: none"> • Modèles agréés • Efficacité de la stérilisation par la chaleur

HEPA : filtre à air à très haute efficacité ; PSM : Poste de sécurité microbiologique.

7. Équipements et vêtements de protection individuelle

Les équipements et vêtements destinés à la protection individuelle peuvent constituer une barrière matérielle qui réduit le risque d'exposition aux aérosols, aux éclaboussures ou encore le risque d'inoculation accidentelle. Le choix de ces équipements ou vêtements dépend de la nature des manipulations à effectuer. Chaque fois qu'ils

ont un travail à faire au laboratoire, les membres du personnel doivent porter des vêtements protecteurs (voir l'encadré 6). Avant de quitter le laboratoire, ils doivent les ôter puis se laver les mains. Le tableau 5 décrit succinctement divers types d'équipements de protection utilisés au laboratoire et les risques contre lesquels ils protègent.

Tableau 5. Équipements et vêtements de protection individuelle utilisables dans les laboratoires de la tuberculose

Équipement	Danger potentiel ou risque	Caractéristiques de sécurité
Blouses ou sarraus de laboratoire ouverts devant	Contamination des vêtements de ville	<ul style="list-style-type: none"> • Généralement à manches longues et boutonnant devant pour couvrir les vêtements de ville • Pour des travaux comportant peu de risque de contamination
Blouses ou sarraus de laboratoire ouverts derrière	Contamination des vêtements de ville	<ul style="list-style-type: none"> • Doivent être à manches longues avec manchettes élastiques (d'au moins 30 mm de long) • Doivent s'ouvrir dans le dos • Doivent couvrir les vêtements de ville
Appareils/masques respiratoires	Inhalation d'aérosols	<ul style="list-style-type: none"> • Notamment les modèles N95 (norme des États-Unis) et FFP2 (norme européenne) avec masque complet ou demi-masque et cartouche de purification de l'air
Gants	Contact direct avec les microorganismes	<ul style="list-style-type: none"> • Jetables, certifiés de qualité microbiologique, en latex, PVC ou polyacrylonitrile

7.1 Blouses ou sarraus de laboratoire boutonnant dans le dos

Ces blouses ou sarraus doivent être à manches longues et boutonner dans le dos. Lorsque l'opérateur est debout, le bas de la blouse doit descendre sous le niveau de la paillasse et lui couvrir les genoux en position assise. Les blouses ou sarraus réutilisables doivent passer à l'autoclave avant d'être lavés. Ils ne doivent pas être emportés à la maison pour les laver : il doit y avoir une blanchisserie dans les locaux du laboratoire ou à

proximité. Il faut changer de vêtement de laboratoire au moins une fois par semaine et immédiatement en cas de contamination manifeste.

Ces blouses ou sarraus ne doivent pas être portés en dehors des locaux du laboratoire. Il doit y avoir un vestiaire où le personnel puisse se changer et ranger ses vêtements de laboratoire. Tout membre du personnel ou toute autre personne qui pénètre dans le laboratoire doit porter une blouse ou un sarrau. Les vêtements de protection ne doivent pas être rangés dans les

mêmes casiers ou armoires que les vêtements de ville. Dans l'éventualité d'une contamination, le personnel doit disposer de vêtements protecteurs de rechange.

7.2 Appareils/masques respiratoires

En principe, les appareils respiratoires ne sont pas nécessaires dans les laboratoires de la tuberculose. Toutefois, il se peut qu'on en recommande l'usage à la suite d'une évaluation des risques dans le cas d'un laboratoire de confinement où l'on manipule des cultures de bacilles tuberculeux. Lorsque des cultures sont manipulées dans un laboratoire de la tuberculose, il faut disposer d'appareils respiratoires, même si ceux-ci ne sont pas portés systématiquement, au cas où un accident biologique (produit répandu, par exemple) se produirait hors d'un PSM. Les appareils respiratoires doivent figurer dans le nécessaire de nettoyage des produits répandus.

Un appareil respiratoire ne peut en aucun cas remplacer un PSM bien entretenu qui fonctionne correctement. Si l'évaluation du risque révèle que l'usage d'appareils respiratoires est indiqué, on devra utiliser les modèles N95 (norme des États-Unis NIOSH N95) ou FFP2 (norme européenne EN 149: 2001). Ces appareils sont des dispositifs légers qui couvrent le nez et la bouche et filtrent 94 à 95 % des particules $\geq 0,3-0,4 \mu\text{m}$.

Dans un laboratoire où l'on utilise des appareils respiratoires, tous les membres du personnel doivent apprendre à les mettre correctement, à bien les utiliser et à en connaître les limites; une formation leur sera dispensée à cet effet. Le mieux serait de leur faire faire un essai d'ajustage pour vérifier qu'il n'y a aucun défaut d'étanchéité. Ces appareils sont déconseillés aux personnes portant la barbe. Ils doivent être rangés dans un local propre, sec et hygiénique et ne pas être portés hors du laboratoire. Une fois que l'appareil est en place sur le visage de l'opérateur, celui-ci ne doit en aucun cas en toucher le devant. Si l'opérateur doit répondre au téléphone ou s'adresser à quelqu'un, il ne doit pas faire glisser le masque sous son menton ou le relever sur sa tête.

Les appareils respiratoires doivent être inspectés avant toute utilisation afin de vérifier qu'ils ne comportent pas de trous autres que les perforations des agrafes (si ces trous sont élargis du fait que le matériau filtrant s'est fendu ou déchiré autour des perforations des agrafes, on considérera que le masque respiratoire est endommagé). Il faut également vérifier les sangles et les soupapes. Tout appareil respiratoire endommagé doit être éliminé et immédiatement remplacé.

Les masques chirurgicaux ne sont pas des appareils respiratoires, ils ne sont pas agréés en tant que tels et n'offrent aucune véritable protection aux opérateurs qui effectuent des tests de diagnostic de la tuberculose susceptibles de produire des aérosols. Ils ne sont pas conçus pour protéger contre l'inhalation d'aérosols infectieux de faible granulométrie et il ne faut donc pas les utiliser.

7.2.1 Ajustement d'un appareil respiratoire

Le personnel qui utilise des appareils respiratoires doit recevoir une formation. Il faut lui apprendre le mode opératoire suivant pour mettre en place le masque :

- prendre le masque dans le creux de la main, avec la barrette nasale au bout des doigts et en laissant pendre les sangles librement ;
- placer le masque sous le menton avec la barrette nasale vers le haut; tirer la sangle supérieure du harnais par-dessus la tête et la mettre sur le haut de l'occiput; tirer la sangle inférieure par-dessus la tête et la faire descendre jusqu'à la nuque, au-dessous des oreilles ;
- poser le bout des doigts des deux mains sur le haut de la barrette nasale métallique ; avec les deux mains appuyer vers l'intérieur sur la barrette tout en faisant glisser les doigts vers le bas le long des deux côtés de la barrette pour lui faire épouser la forme du nez ; si l'on pince la barrette nasale avec une seule main, on risque de ne pas l'ajuster parfaitement et l'appareil respira-

toire fonctionnera moins bien. Il faut donc toujours procéder avec les deux mains.

7.2.2 Retrait d'un appareil respiratoire

- L'opérateur doit ôter ses gants et se laver les mains avec soin avant de retirer le masque respiratoire. Il ne faut toucher que les sangles et éviter tout contact avec le devant du masque lui-même.

7.3 Gants

Il faut porter des gants pour toute manipulation impliquant un contact direct, ou comportant un risque de contact accidentel avec des expectorations, du sang, des liquides organiques ou tout autre type de matériel potentiellement infectieux. Après usage, l'opérateur doit ôter ses gants de manière aseptique et se laver les mains.

Manipuler ou utiliser un appareil ou un équipement quelconque du laboratoire (comme une centrifugeuse ou un téléphone) avec des gants contaminés ou des mains non lavées peut constituer une source d'infection pour les autres membres du personnel.

Un lavage régulier des mains est essentiel pour prévenir nombre d'infections contractées au laboratoire, et notamment celles qui sont dues à des germes pathogènes transmissibles par le sang.

Des gants jetables en latex, en PVC sans latex (transparents) ou en polyacrylonitrile de tailles appropriées (petite taille, taille moyenne, grande taille) doivent être mis à la disposition de tout le

personnel. Ces gants doivent couvrir les poignets et pouvoir être portés aussi confortablement que possible.

Il ne faut jamais réutiliser des gants jetables ; une fois utilisés, ils doivent être éliminés avec les déchets infectieux du laboratoire. Il faut que le laboratoire puisse être approvisionné en gants de manière suffisamment sûre. Les gants ne doivent pas être portés hors des locaux du laboratoire.

Après avoir manipulé du matériel infectieux, avoir travaillé sous un PSM et avant de quitter le laboratoire, le personnel doit retirer ses gants et se laver scrupuleusement les mains à l'eau et au savon.

7.3.1 Retrait des gants

Il faut apprendre au personnel du laboratoire à retirer ses gants en procédant comme suit :

1. Tirer sur le gant en le pinçant sous la manchette et en le faisant rouler le long de la main jusqu'à voir la face interne se retourner sur la face externe. De la sorte, presque toute la contamination reste à l'intérieur.
2. Tenir le gant utilisé dans la main encore gantée. Glisser avec précaution les doigts dégantés sous la manchette de la main gantée, en veillant à ne pas toucher la surface du gant contaminé. Retirer le gant en le retournant jusqu'à faire apparaître la face interne et le faire rouler sur l'autre gant utilisé de manière à constituer une sorte de sac dont la contamination se trouve à l'intérieur.
3. Se débarrasser des gants de manière sûre et appropriée.

Encadré 6. Directives pour l'utilisation des gants et des appareils/masques respiratoires en fonction du niveau de risque du laboratoire de la tuberculose

Ces directives récapitulent les exigences minimales auxquelles il faut répondre pour utiliser ce type d'équipement aux différents niveaux des laboratoires de la tuberculose.

Appareils respiratoires

En principe, ces appareils respiratoires ne sont pas nécessaires aux activités d'un laboratoire de la tuberculose et la question de savoir si l'on doit s'en servir dépend de l'évaluation du risque effectuée au niveau local ou national. Il est possible qu'à la suite de cette évaluation, il soit recommandé d'en faire usage dans les locaux de confinement de laboratoires où des cultures sont manipulées ou des tests de pharmacosensibilité effectués. Il ne faut en aucun cas considérer que ces équipements peuvent remplacer un PSM.

Gants

Lors de la manipulation de tout échantillon infectieux ou de cultures contenant des bacilles tuberculeux, il faut impérativement porter des gants.

Équipements de protection individuelle	Laboratoire à faible risque	Laboratoire à risque modéré	Laboratoire à haut risque de confinement
Appareils respiratoires	Pas nécessaires	Pas nécessaires	Peuvent être nécessaires suite à une évaluation du risque
Masques chirurgicaux	Non conçus pour protéger l'opérateur contre l'inhalation d'aérosols infectieux et ne doivent donc pas être utilisés comme protection respiratoire		
Gants	Nécessaires	Nécessaires	Nécessaires

8. Plans de préparation et de réaction aux situations d'urgence

Il est nécessaire que chaque établissement qui détient des isolements de *M. tuberculosis* ou qui travaille sur ces germes dispose d'un plan écrit de préparation aux situations d'urgence résultant d'incidents ou d'accidents de laboratoire.

8.1 Plan de préparation aux situations d'urgence

Le plan doit indiquer quelle est la marche à suivre pour :

- réagir à une catastrophe naturelle, telle qu'incendie, inondation, séisme ou explosions
- procéder à une évaluation des risques résultant de l'adoption d'un nouveau mode opératoire ou de la révision d'un mode opératoire
- prendre en charge les cas d'exposition et procéder à une décontamination
- évacuer d'urgence le personnel présent sur les lieux
- assurer le traitement médical d'urgence des personnes exposées ou blessées
- assurer la surveillance médicale des personnes exposées lors d'un incident
- assurer la prise en charge clinique des personnes exposées lors d'un incident
- procéder à une enquête épidémiologique
- assurer la poursuite des opérations après un incident.

Lors de l'élaboration de ce plan, il faut envisager d'y inclure les renseignements suivants :

1. Localisation des zones à haut risque, tels que laboratoires et aires de stockage
2. Identification du personnel et des populations exposés au risque

3. Détermination de la conduite à tenir en fonction du niveau de risque
4. Identification des personnes responsables et de leurs responsabilités, par exemple : délégué à la sécurité biologique, équipe de sécurité, autorités sanitaires locales, cliniciens, microbiologistes, vétérinaires, épidémiologistes, pompiers et policiers
5. Établissements de soins et de post-cure susceptibles de recevoir les personnes exposées ou contaminées
6. Transport des personnes exposées ou contaminées
7. Approvisionnement en équipements d'urgence tels que vêtements de protection, désinfectants, nécessaires pour le nettoyage du matériel biologique ou des produits chimiques répandus, équipements et fournitures pour la décontamination.

8.2 Marche à suivre face à une situation d'urgence dans un laboratoire de la tuberculose

8.2.1 Substances infectieuses répandues (hors d'un PSM)

Le déversement de substances infectieuses hors d'un PSM constitue un incident majeur. Si un liquide infectieux est répandu, il peut donner naissance à des aérosols infectieux. Tout le personnel doit immédiatement évacuer la zone du laboratoire où s'est produit l'incident. Le chef de laboratoire doit être prévenu sans délai et le personnel ne doit pas être autorisé à réintégrer les locaux pendant au moins 1 heure de manière que le système de ventilation puisse éliminer les aérosols et que les particules les plus lourdes aient le temps de se déposer.

Il faut placer des pancartes indiquant que l'entrée du laboratoire est interdite pendant les travaux de nettoyage. Des vêtements protecteurs et des

masques respiratoires appropriés DOIVENT être portés.

Pour nettoyer les substances répandues, on procédera comme suit :

1. Mettre des gants, un sarrau de protection boutonnant dans le dos et un masque respiratoire.
2. Regagner la zone de l'incident.
3. Couvrir la substance répandue à l'aide de lingettes ou de serviettes en papier pour éviter qu'elle ne s'étende.
4. Verser un désinfectant convenable sur les lingettes ou les serviettes ainsi qu'aux abords immédiats de la zone (en général une solution d'hypochlorite à 5 % fera l'affaire).
5. Appliquer le désinfectant de manière concentrique en commençant par le bord extérieur de la souillure et en allant vers le centre.
6. Attendre suffisamment longtemps pour que le désinfectant agisse avant d'enlever la souillure pour l'éliminer. En présence de verre brisé ou d'autres fragments pointus ou tranchants, utiliser une pelle à poussière ou un morceau de carton rigide pour recueillir la substance répandue et la déposer dans un conteneur imperforable en vue de son élimination.
7. Placer tout le restant du matériel contaminé dans un sac fermé en vue de l'éliminer selon les règles.
8. Nettoyer et désinfecter la zone souillée.

Toute personne exposée à cette souillure doit être dirigée sur un service médical pour la suite à donner et un procès-verbal de l'incident doit être établi et conservé.

8.2.2 Substances infectieuses répandues (confinées dans l'enceinte d'un PSM)

Lorsque des substances infectieuses sont répandues dans un PSM, il faut procéder immédiatement au nettoyage et poursuivre le travail sous le PSM. Marche à suivre :

1. Disposer un tissu absorbant sur la zone souillée et verser dessus une bonne quantité de solution désinfectante.

2. Si les parois du PSM ont été éclaboussées, les nettoyer avec une couche de serviettes absorbantes en papier très largement imbibées de solution désinfectante.
3. Laisser agir pendant 30 minutes à 1 h le désinfectant qui couvre les zones souillées.
4. Recueillir soigneusement les objets ou fragments pointus ou tranchants qui sont contaminés et les placer dans un conteneur imperforable en vue de leur élimination.
5. Tout appareil ou pièce de matériel réutilisable (par ex. des godets de centrifugeuse) qui a été contaminé doit être nettoyé avec le même désinfectant.
6. Le matériel électrique doit être scrupuleusement vérifié avant utilisation ; bien s'assurer que les coupe-circuit et les disjoncteurs sont intacts.
7. Recueillir dans un sac fermé tout le matériel contaminé restant en vue de son élimination selon les règles.

8.2.3 Bris de tubes à l'intérieur de godets fermés (pots de sécurité)

Toujours utiliser des godets de centrifugeuse qui soient fermés et ne procéder à leur chargement ou à leur déchargement que sous un PSM. Si des tubes se rompent pendant la centrifugation, il faut placer les tubes brisés dans un conteneur imperforable et s'en débarrasser immédiatement.

Pour décontaminer les godets de centrifugeuse, les plonger dans un désinfectant convenable. Pour désinfecter des pièces métalliques, ne pas utiliser d'hypochlorite qui attaquerait le métal. Passer plutôt les godets à l'autoclave.

8.3 Nécessaire pour le nettoyage des substances répandues

Il incombe au chef de laboratoire de veiller à la tenue des nécessaires de nettoyage. Le laboratoire doit disposer de deux nécessaires pour traiter tout déversement de substances : l'un qui sera placé hors du laboratoire de confinement et

l'autre qu'on installera dans le laboratoire. Ces nécessaires doivent avoir la composition indiquée ci-dessous.

Nécessaire pour le nettoyage des substances répandues :

- Solution d'hypochlorite dans un flacon opaque^a (ou tout autre désinfectant convenable)
- Masques respiratoires (1 boîte)
- Gants (1 boîte)
- Sarraus de laboratoire (boutonnant dans le dos) (4 à 6 sarraus jetables)
- Pelle à poussière avec brosse (à jeter si nécessaire)
- Comprimés de chloramine (10 comprimés)
- Serviettes en papier
- Savon
- Conteneur pour objets pointus ou tranchants
- Sacs pour matières infectieuses
- Lunettes de protection (2 paires)

^a Les solutions d'hypochlorite se périment rapidement. Si une grande quantité de matière a été répandue, il vaut mieux préparer la solution extemporanément.

9. Bibliographie

1. *Manuel OMS d'élaboration des directives*. Genève : Organisation mondiale de la Santé, 2012.
2. *Manuel de sécurité biologique en laboratoire, 3^e édition*. Genève : Organisation mondiale de la Santé, 2005 (également disponible sur le site suivant : <http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/LabBiosMan3rdFrenchweb.pdf>)
3. *Laboratory biorisk management standard: CEN workshop agreement*. Bruxelles, Comité européen de normalisation, 2008 (CWA 15793:2008) (également disponible sur le site suivant : <ftp://ftp.cenorm.be/public/CWAs/wokrshop31/CWA15793.pdf>)
4. Styblo K. *Epidemiology of tuberculosis*. La Haye, Royal Netherland Tuberculosis Association, 1991
5. Olsen AM et al. Infectiousness of tuberculosis. *American Review of Respiratory Disease*, 1967, 96:836–870.
6. Qian Y et al. Performance of N95 respirators: reaerosolization of bacteria and solid particles. *AIHA Journal*, 1997, 58:876–880.
7. Segal-Maurer S, Kalkut GE. Environmental control of tuberculosis: continuing controversy. *Clinical Infectious Diseases*, 1994, 19:299–308.
8. Miller JM et al. Guidelines for safe work practices in human and animal medical diagnostic laboratories: recommendations of a CDC-convened, biosafety blue ribbon panel. *MMWR Surveillance Summaries*, 2012, 61(Suppl.):1-102.
9. Rieder L et al. *Priorities for tuberculosis bacteriology services in low-income countries, Deuxième édition*. Paris, Union internationale contre la tuberculose et les maladies respiratoires. 2007.
10. Kim SJ et al. Risk of occupational tuberculosis in national tuberculosis programme laboratories in Korea. *International Journal of Tuberculosis and Lung Diseases*, 2007, 11:138–142.
11. *Laboratory services in tuberculosis control. Part II: microscopy*. Genève, Organisation mondiale de la Santé, 2008 (WHO/TB/98.258).
12. *Acid-fast direct smear microscopy training package*. Atlanta, GA, Centers for Disease Control and Prevention, 2006 (<http://wwwn.cdc.gov/dls/ila/acidfasttraining>, consulté le 12 October 2012).
13. *Five steps to risk assessment*. Londres, Health and Safety Executive, 2011 (également disponible sur le site suivant : <http://www.hse.gov.uk/risk/expert.htm>)
14. Collins HC. *Laboratory-acquired infections, Deuxième édition*. Londres, Butterworth, 1988.
15. Rieder HL et al. The public health service national tuberculosis reference laboratory and the national laboratory network: minimum requirements, role and operation in a low-income country. Paris, Union internationale contre la tuberculose et les maladies respiratoires, 1998.

16. Tuberculosis infection-control in the era of expanding HIV care and treatment: addendum to WHO guidelines for the prevention of tuberculosis in health care facilities in resource-limited settings. Genève, Organisation mondiale de la Santé, 1999 (également disponible sur le site suivant: http://whqlibdoc.who.int/hq/1999/WHO_TB_99.269_ADD_eng.pdf)
17. Ventilated workstation manual for AFB smear microscopy: manufacturing, validation and user guide. Silver Spring, MD, Association of Public Health Laboratories, 2011 (http://www.aphl.org/aphlprograms/21/Documents/GH_2011July_VentilatedWorkstationGuidance.pdf, accessed 12 October 2012).
18. Standards Australia International. AS/NZS2252.1:1994, Biological safety cabinets – biological safety cabinets (Class I) for personal and environment protection. Sydney, Standards Australia International, 1994.
19. Standards Australia International. AS/NZS 2252.2:1994, Biological safety cabinets – laminar flow biological safety cabinets (Class II) for personnel, environment and product protection, Sydney, Standards Australia International, 1994.
20. NSF/ANSI 49 – 2008. Biosafety cabinetry: design, construction, performance, and field certification. Ann Arbor, MI, NSF International, 2008.(également disponible sur le site suivant: http://standards.nsf.org/apps/group_public/download.php/3604/NSF_49-08e-rep-watermarked.pdf)
21. BS EN 12469:2000. Biotechnology: Performance criteria for microbiological safety cabinets. Londres, British Standards Institution, 2000.

Annexe 1 : Participants à la réunion

Groupe d'experts

Jenny Allen

Medical Research Council
491 Ridge Road, Durban 4000
Afrique du Sud

Heather Alexander

Centers for Disease Control and Prevention
1600 Clifton Road
MS-G35, NE
Atlanta, GA 30333
États-Unis d'Amérique

Daniela Cirillo

Service des bactéries pathogènes émergentes
San Raffaele del Monte Tabor Foundation (HSR)
Via Olgettina 60
20132- Milan
Italie

Philippe Dubois

Cellule d'Intervention Biologique d'Urgence
Institut Pasteur
25 rue du Docteur Roux
75015 Paris
France

Jean Joly

Centre de Santé et de Services Sociaux de la
Haute-Yamaska
250 boulevard Leclerc Oeust
Granby, QC J2G 1T7
Canada

Scott Kreitlein

CUH2A
120 Peachtree Street, NE
Atlanta, GA 30303
États-Unis d'Amérique

Knut Feldmann

Foundation for Innovative New Diagnostics
16 Avenue de Budé
1202 Geneva
Suisse

Christopher Gilpin

Organisation internationale pour les migrations
Route de Morillons
Genève 1211
Suisse

Sang Jae Kim

Union internationale contre la tuberculose et les
maladies respiratoire (UICTRM)
101-703 Unjeongmaul, 621 Mabukri
Guseongup, Yonginsi
449-560- Kyeonggido
République de Corée

Moses Joloba

National TB Reference Laboratory
Ministry of Health
16041, Plot 2 Lourdel Road
7062 - Wandegeya
Ouganda

Paul Jensen

Centers for Disease Control and Prevention
1600 Clifton Road
MS-G35, NE
Atlanta, GA 30333
États-Unis d'Amérique

Shana Nesby

Centers for Disease Control and Prevention
1600 Clifton Road
MS-G35, NE
Atlanta, GA 30333
États-Unis d'Amérique

CN Paramasivan

Foundation for Innovative New Diagnostics
16 Avenue de Budé
1202 Genève
Suisse

John Ridderhof

Centers for Disease Control and Prevention
1600 Clifton Road
MS-G35, NE
Atlanta, GA 30333
États-Unis d'Amérique

Thomas M Shinnick

Centers for Disease Control and Prevention
1600 Clifton Road
MS-G35, NE
Atlanta, GA 30333
États-Unis d'Amérique

Peter van't Erve

Particle Measurement and Validation (PMV)
Kuijpersweg 37
3446 JA Woerden
Pays-Bas

Membres du personnel de l'OMS

May Chu, Règlement sanitaire international
Sébastien Cognat, Règlement sanitaire international
Nicoletta Previsani, Règlement sanitaire international
Jean Iragena, Halte à la tuberculose/Renforcement des laboratoires
Veronique Vincent, Halte à la tuberculose/Renforcement des laboratoires
Karin Weyer, Halte à la tuberculose/Renforcement des laboratoires

Programme spécial OMS de recherche et de formation concernant les maladies tropicales (TDR)

Andy Ramsay

Annexe 2: Déclarations d'intérêts

Aucun intérêt déclaré

John Ridderhof
Thomas M Shinnick
Knut Feldmann
CN Paramasivan
Daniela Cirillo
Sang Jae Kim
Christopher Gilpin
Moses Joloba
Shanna Nesby
Jenny Allen
Philippe Dubois

Intérêts déclarés, négligeables (statut d'observateur)

Jean Joly: en 2007, Consultant pour la syphilis auprès du Programme spécial OMS de recherche et de formation concernant les maladies tropicales (TDR).

Paul Jensen: Fonctionnaire depuis 2007 aux Centers for Disease Control and Prevention des

États-Unis. La sécurité biologique est un aspect essentiel de ses fonctions aux CDC et il est l'auteur de publications sur le sujet. Il n'a jamais reçu d'argent ni bénéficié d'un soutien en nature de la part d'établissements commerciaux travaillant dans le domaine de la sécurité biologique.

Intérêts déclarés, non négligeables (statut d'observateur)

Peter van't Erve: Employé depuis 1989 par la firme Particle Measurement and Validation. Il s'agit d'une entreprise active dans le domaine de la validation/certification des salles blanches, des postes de sécurité microbiologique et des hottes à flux laminaire.

Scott Kreitlein: Employé depuis 2001 par la firme CUH2A. Cette firme est spécialisée dans l'architecture et les installations techniques des laboratoires. M.Kreitlein a déclaré avoir participé à l'établissement de lignes directrices en matière de sécurité biologique.

Annexe 3 : Groupe d'examen par des pairs

Heather Alexander

Centers for Disease Control and Prevention
1600 Clifton Road
MS-G35, NE
Atlanta, GA 30333
États-Unis d'Amérique

Pawan Angra

Centers for Disease Control and Prevention
1600 Clifton Road
MS-G35, NE
Atlanta, GA 30333
États-Unis d'Amérique

Daniela Cirillo

Emerging Bacterial Pathogens Unit
San Raffaele del Monte Tabor Foundation (HSR),
Via Olgettina 60
20132- Milan
Italie

Gerrit Coetzee

National Tuberculosis Reference Laboratory
National Health Laboratory Service
P.O. Box 1038
Cnr Hospital De Karte Street
Braamfontein 2000 Johannesburg
Afrique du Sud

Edward Desmond

Mycobacteriology and Mycology Section
Microbial Diseases Laboratory
California Dept. of Public Health
850 Marina Bay Parkway
Richmond, CA 94804
États-Unis d'Amérique

Sara Irène Eyangoh

Chargé de recherche
Chef de service de Mycobactériologie
LNR du PNLT
Centre Pasteur du Cameroun
BP 1274 Yaoundé
Cameroun

Knut Feldmann

Foundation for Innovative New Diagnostics
16 Avenue de Budé
1202 Geneva
Suisse

Rumina Hasan

Department of Pathology and Microbiology
Aga Khan University
Stadium Road
P.O. Box 3500
Karachi, 748000
Pakistan

Moses Joloba

National TB Reference Laboratory
Ministry of Health
16041, Plot 2 Lourdel Road
7062 - Wandegeya
Ouganda

Satoshi Mitarai

Institut de recherche sur la tuberculose
3-1-24 Matsuyama
Kiyose-Shi
204-8533 Tokyo
Japon

Rick O'Brien

Foundation for Innovative New Diagnostics
16 Avenue de Budé
1202 Genève
Suisse

Daniel Orozco

Foundation for Innovative New Diagnostics
16 Avenue de Budé
1202 Genève
Suisse

CN Paramasivan

Foundation for Innovative New Diagnostics
16 Avenue de Budé
1202 Genève
Suisse

Leen Rigouts

Institut de Médecine tropicale
Nationalestraat 155
B-2000 Antwerp
Belgique

Thomas M Shinnick

Centers for Disease Control and Prevention
1600 Clifton Road
MS-G35, NE
Atlanta, GA 30333
États-Unis d'Amérique

Akos Somoskovi

Foundation for Innovative New Diagnostics
16 Avenue de Budé
1202 Genève
Suisse

Maria Alice da Silva Telles

Laboratoire national de référence
pour la tuberculose
Centro de Referência Prof. Hélio Fraga
Estrada de Curicica no. 2000
Jacarepaguá
RJ 22780-192 Rio de Janeiro
Brésil

Elsie Van Schalkwyk

African Centre for Integrated Laboratory Training
(ACILT)
National Health Laboratory Service
National Institute for Communicable Diseases
1 Modderfontein Rd
Private Bag X8
Sandringham 2131
Johannesburg
Afrique du Sud

Membres du personnel de l'OMS

Nicoletta Previsani,
Règlement sanitaire international
Magdi Samaan,
Règlement sanitaire international
Jean Iragena,
Halte à la tuberculose/Renforcement
des laboratoires

Fuad Mirzayev,
Halte à la tuberculose/Renforcement
des laboratoires

Wayne van Gemert,
Halte à la tuberculose/Renforcement
des laboratoires

Christopher Gilpin,
Halte à la tuberculose/Renforcement
des laboratoires