

Consignes particulières

Mesures de sécurité supplémentaires en cas d'utilisation de microorganismes (OPTM, Art. 9)

1 En cas d'utilisation de microorganismes des groupes 1 à 4, il convient de prendre les mesures de sécurité correspondant aux niveaux de sécurité 1 à 4 selon l'annexe 3; en cas d'utilisation de microorganismes des groupes 2 à 4, il s'agit de milieux confinés. L'art. 6, al. 6, est réservé.

2 Pour l'analyse microbiologique en laboratoire d'échantillons du sol, de l'eau, de l'air ou de denrées alimentaires, les mesures de sécurité correspondant au niveau de sécurité 1 indiquées pour les laboratoires de recherche et de développement sont généralement suffisantes. S'il faut compter avec un risque sensiblement plus élevé, des mesures plus contraignantes doivent être prises.

3 Pour les analyses en laboratoire de matériel clinique (diagnostic microbiologique médical), les mesures de sécurité correspondant au niveau de sécurité 2 indiquées pour les laboratoires de recherche et de développement sont généralement suffisantes.

4 Si des microorganismes pathogènes du groupe 3 sont enrichis dans des buts spécifiquement diagnostics et qu'il faut compter avec un risque plus élevé, on prendra les mesures de sécurité correspondant au niveau de sécurité 3 indiquées pour les laboratoires de recherche et de développement. En cas d'utilisation de microorganismes du groupe 4 dans des buts spécifiquement diagnostics, il convient de prendre les mesures de sécurité correspondant au niveau de sécurité 4.

Les agents infectieux (prions) responsables de l'encéphalite spongiforme transmissible (EST) sont classifiés dans le groupe 3

Bien qu'il n'existe aucune preuve manifeste que les infections dues à des agents responsables de l'ESB chez l'homme soient causées par des prions animaux, tous les travaux doivent être effectués avec des mesures de sécurité de la classe de risque de l'activité 3.

Recommandations pour le travail avec des cultures de cellules (août 1999)
Commission fédérale suisse d'experts pour la sécurité biologique CFBS

Le travail avec des cultures de cellules primaires devrait généralement être effectué dans des mesures de sécurité de la classe de risque de l'activité 2. Après repiquage, on peut travailler avec une lignée cellulaire dans des mesures de sécurité de la classe de risque de l'activité 1, mais uniquement si elle a été testée au préalable et qu'on a pu prouver qu'elle ne contient aucun agent pathogène pour l'homme ou l'animal, conformément aux recommandations pour la production de vaccins, et si le but de l'expérience permet le travail dans des mesures de sécurité de la classe de risque de l'activité 1. Le travail dans des mesures de sécurité de la classe de risque de l'activité 1 peut aussi être envisagé dans le cas de lignées classiques très bien caractérisées et largement utilisées, telles que CHO, Vero et Hela. Dans des laboratoires où l'on manipule des agents pathogènes susceptibles d'infecter les cellules, cet allègement des mesures de sécurité ne devrait toutefois pas être envisagé.

Il incombe aux chefs/cheffes de projet d'obtenir l'information concernant la source de la culture cellulaire primaire, qu'elle soit humaine ou animale, afin d'évaluer le risque de contamination par des agents pathogènes justifiant d'un niveau de sécurité supérieur au niveau de sécurité 2 (p. ex. pour le VIH). Il leur incombe également de déterminer si les conditions de culture sont susceptibles de permettre à ces agents pathogènes de se propager.

Il incombe aux responsables de la sécurité biologique et à la CFBS de répondre aux questions et d'aider les chefs/cheffes de projet de l'expérience à définir les mesures de sécurité à appliquer dans des cas particuliers.

Ces recommandations se basent sur les considérations suivantes:

La plupart des tests diagnostiques et des protocoles de recherche mettant en œuvre des cellules eucaryotes sont actuellement conduits dans des mesures de sécurité conçues pour protéger les échantillons des contaminations externes (notamment en utilisant les postes de sécurité microbiologique de classe II). Aujourd'hui, cette approche peut être qualifiée de bonne pratique de laboratoire parce qu'elle permet d'éviter, par exemple, une contamination par des mycoplasmes. En appliquant quelques précautions supplémentaires simples, ces mesures peuvent être reclassées en mesures de sécurité de la classe de risque de l'activité 2 à part entière.

Il n'existe aucun indicateur clinique ou microbiologique simple permettant de garantir l'absence de tout agent pathogène dans les cellules primaires d'un organisme vivant. De nombreux agents pathogènes pour l'homme ou l'animal peuvent présenter un risque pour les travailleurs. La mise en œuvre de batteries de tests visant à exclure ces agents pathogènes peut s'avérer très coûteuse et ne se justifie que lorsque les cellules sont destinées à être utilisées à grande échelle à des fins industrielles.

Les conditions de culture dans lesquelles s'effectue une expérience donnée ne favorisent que la réplication d'un nombre limité d'agents pathogènes.

La situation des lignées cellulaires ou des clones dérivés de cellules primaires ne diffère pas fondamentalement de celle des cellules primaires. Les connaissances

concernant une lignée cellulaire progressent en fonction du temps écoulé depuis son explantation, de sorte que la probabilité que la lignée puisse être contaminée diminue. Il faut toutefois toujours garder à l'esprit qu'il existe un risque de contamination accidentelle.

Il est difficile d'établir une différence qualitative nette entre le diagnostic et la recherche. Pour de nombreux agents pathogènes, il existe une recoupe entre la quantité (nombre ou concentration) d'organismes pathogènes utilisés dans les protocoles de diagnostic et les protocoles de recherche. La probabilité d'être en présence d'agents pathogènes quels qu'ils soient est toutefois plus grande lorsqu'on travaille dans le domaine du diagnostic qu'en recherche.

Texte intégral : Elaboré par la Commission fédérale d'experts pour la sécurité biologique avec le concours d'autres experts; mai 1998/août 1999

Autres commentaires concernant les cultures cellulaires

La probabilité de pénétration, d'intégration et de division de cellules en culture suite à un accident est un risque difficile à évaluer. Pour cette raison, les cellules d'origine humaine, mais également simienne, devront être traités comme un échantillon biologique à risque.

Extrait du cahier de prévention « Risques biologiques » du CNRS, 1^{ère} éd., 2002

Nettoyage, désinfection, stérilisation

Inactivation des microorganismes pathogènes ou génétiquement modifiés

Lors de l'utilisation délibérée de microorganismes pathogènes ou génétiquement modifiés, des mesures doivent être prises. Les microorganismes pathogènes ou génétiquement modifiés contenus dans le matériel contaminé ou restant sur les appareils contaminés, doivent être désactivés.

La chaleur

L'OUC et l'OPTM prévoient toutes deux la présence d'un autoclave pour l'inactivation des microorganismes pathogènes (niveau 2 à 4) ou génétiquement modifiés. L'autoclave sera dans le même bâtiment pour les activités de la classe 2 et dans le même laboratoire pour les activités de la classe 3.

Les liquides contaminés et les déchets solides seront traités de façon à inactiver le matériel biologique. Ils pourront être traités par exemple en les autoclavant 20 minutes à 121 °C (1,2 bar). Une température de 134 °C (1,5 bar) sera utilisée pour les organismes très stables à haute température et pour les spores.



Autoclave à chargement vertical

Les désinfectants

On peut également procéder à une désinfection chimique par trempage dans une solution désinfectante. Les surfaces de travail utilisées seront désinfectées au moins une fois par jour. Les désinfectants doivent être dilués selon les indications spécifiques et le temps d'action doit être respecté.

Il faut veiller au respect des valeurs limites moyennes d'exposition (VME*) pour l'agent utilisé.

Attention cependant au fait que l'emploi de désinfectants (VME formaldéhyde (0,5 ppm), glutaraldéhyde (0,1 ppm)) comporte un risque accru de dermatites de contact toxiques ou allergiques ainsi qu'un risque d'affection respiratoire et d'irritations oculaires.

Prendre les précautions d'usage pour se protéger.

Les désinfectants alcooliques (VME éthanol (1000 ppm) ; isopropanol (400 ppm)) sont beaucoup moins toxiques, mais ils sont inflammables.

Ces désinfectants doivent impérativement être utilisés lors de contamination accidentelle. Lors du renversement d'une culture, on peut couvrir et pomper le liquide avec du papier préalablement imprégné d'une solution désinfectante.

Porter des gants et des lunettes lors de la manipulation de ces désinfectants toxiques.

**VME : valeur moyenne d'exposition : indique la concentration moyenne dans l'air d'un poste de travail en un polluant donné qui, en l'état actuel des connaissances, ne met pas en danger la santé de la très grande majorité des travailleurs sains qui y sont exposés.*

Lors de blessures et contamination avec du matériel infectieux, il faut immédiatement nettoyer la plaie avec de l'eau et du savon, puis se désinfecter la plaie avec un désinfectant et éventuellement consulter un médecin en fonction de la blessure et de l'agent infectieux.

Traitement des déchets biologiques

Dans la gestion des déchets biologiques, il convient de respecter les mêmes conditions de manipulations et de confinement que lors de l'utilisation des agents biologiques.

Les déchets doivent être régulièrement éliminés.

Le stockage provisoire doit se faire en respectant les règles de confinement.

Laboratoire P1 : souches non pathogènes et non modifiées génétiquement : pas d'inactivation nécessaire, les déchets liquides peuvent être éliminés dans l'évier pour autant qu'il n'y ait pas d'autres contaminants p.ex. chimiques ou radioactifs. Les déchets solides doivent être éliminés avec les déchets incinérables, avec les mêmes restrictions que les liquides. Les objets tranchants ou coupants doivent être éliminés comme déchets spéciaux.

Tout matériel de laboratoire contaminé par un OGM de classe 1 doit être inactivé avant élimination pour une filière de déchet normal.

Laboratoire P2 : On doit procéder à l'**inactivation** des microorganismes du matériel, des déchets et des appareils contaminés. Tout ce qui sort du laboratoire en tant que déchet doit donc être inactivé ou traité comme déchet spécial s'il y a contamination p.ex. chimique ou radioactive, tout en spécifiant s'il y a contamination biologique.

Les objets tranchants ou coupants doivent être éliminés comme déchets spéciaux.

S'ils sont contaminés, ils doivent être stérilisés avant leur élimination ou marqués à la fois comme déchets biologiques et comme déchets coupants. Des récipients collecteurs spéciaux doivent être mis à disposition pour ce type de déchets.

L'autoclave doit se trouver dans le bâtiment.

Laboratoire P3 : On doit procéder à l'inactivation des microorganismes du matériel, des déchets et des appareils contaminés avant la sortie du laboratoire. Les déchets inactivés issus d'un laboratoire P3 restent des déchets spéciaux et doivent être traités comme tels. Ils doivent par conséquent être remis à une entreprise spécialisée.

Les objets tranchants ou coupants contaminés doivent être éliminés comme déchets spéciaux. S'ils sont contaminés, ils doivent être stérilisés avant leur élimination. Ils restent des déchets spéciaux biologiques.

Des récipients collecteurs spéciaux doivent être mis à disposition pour ce type de déchets.

L'autoclave doit se trouver dans le laboratoire.

Déchets animaux : ce type de déchets constitue un déchet spécial et doit être éliminé via une entreprise spécialisée qui procédera à une incinération. Les experts animaliers des institutions fourniront les renseignements nécessaires à ce sujet.

Attention : Ce type de déchet peut présenter un risque infectieux pour l'homme ou les animaux.

Déchets anatomiques humains : ce type de déchets constitue un déchet spécial et doit être éliminé via une entreprise spécialisée ou une institution autorisée qui procédera à une incinération. Les coordinateurs de la sécurité biologique des institutions fourniront les renseignements nécessaires à ce sujet.

Attention : Ce type de déchet peut présenter un risque infectieux pour l'homme.

Information concernant les sacs pour déchets biologiques

Un marquage clair des sacs à déchets biologiques doit être effectué afin de pouvoir identifier aisément les déchets autoclavés de ceux qui ne l'ont pas encore été. Par exemple, le sac autoclavé sera transféré dans un autre sac de couleur différente ne laissant plus apparaître le sigle biohazard et le contenu.

Si des déchets ne peuvent être inactivés dans l'institution, des mesures seront prises pour le transport par une société spécialisée et agréée. Les dispositions de l'ADR/SDR devront être prises en ce qui concerne le marquage des récipients de transport.

Il n'y a pas de dispositions particulières quant à la couleur des sacs pour les déchets biologiques. Des réglementations cantonales peuvent cependant être plus précises.

En général, on utilise des sacs transparents ou jaunes marqués du signe « Biohazard » ou des sacs à bandes blanches et rouges. L'important est d'éviter les confusions entre déchets désactivés ou non désactivés.

Les sacs doivent être résistants et étanches aux liquides.

Cas des déchets mixtes

Dans le cas de déchets biologiques contaminés présentant des risques chimiques et/ou radioactifs, il n'existe pas de règle générale.

Il faut considérer en 1^{er} le danger le plus important. Dans la mesure du possible, on essaiera de traiter le déchet pour qu'il puisse suivre une filière d'élimination.

On se renseignera auprès des responsables de sécurité ou des sociétés agréées pour l'élimination des déchets pour évaluer les risques au cas par cas.

Dans tous les cas, l'autoclavage est interdit car il entraîne un risque de contamination des installations.

Commande, commerce, transport

Les matériaux biologiques qui sortiront du NSB2 à l'état viable seront placés dans un récipient incassables et scellé qui sera lui-même placé dans un 2^{ème} récipient incassable et scellé. Il en va de même avec le transport interne et externe, avec l'échange de souches et achats entre laboratoires et entreprises.

Pour le matériel de classe 3, un triple emballage est nécessaire.

L'emballage extérieur devra comporte le sigle « risque biologique ».

Contrôle autonome en vue de la mise dans le commerce (ODE, art. 5)

1. Quiconque entend mettre dans le commerce des organismes à des fins d'utilisation dans l'environnement doit évaluer les effets possibles sur l'homme ou l'environnement et arriver à la conclusion fondée que, lorsqu'ils sont utilisés dans l'environnement, ces organismes ne peuvent pas mettre en danger l'homme et l'environnement.
2. A cet effet, les aspects suivants seront en particulier évalués:
 - a. la capacité de survie, la propagation et la multiplication des organismes dans l'environnement;
 - b. les interactions possibles des organismes avec d'autres organismes et les biocénoses ainsi que les effets sur les biotopes.

Information du preneur (ODE, art. 6)

1. Quiconque met dans le commerce des organismes ou les exporte en vue d'une utilisation dans l'environnement est tenu d'informer le preneur:
 - a. de la dénomination ainsi que des propriétés des organismes en matière de santé et d'environnement;
 - b. de manière qu'une utilisation, conforme aux prescriptions et aux instructions, de ces organismes dans l'environnement ne mette pas en danger l'homme et l'environnement

Consulter également l'ordonnance suivante :

OCart : Ordonnance sur les mouvements transfrontières des organismes génétiquement modifiés (Ordonnance de Cartagena) du 3 novembre 2004.