

42937

Série OMS SIDA N° 9

**Guide de sécurité
biologique
pour les laboratoires
d'analyse et de recherche
travaillant sur le VIH**



ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ
GENÈVE
1992

Catalogage à la source: Bibliothèque de l'OMS

Guide de sécurité biologique pour les laboratoires d'analyse et de recherche travaillant sur le VIH.

(Série OMS SIDA ; 9)

1.HIV 2.HIV, infection – prévention et contrôle 3.Laboratoire – normes 4.Maîtrise risque biologique 5.Prévention accident I.Série

ISBN 92 4 221009 9
ISSN 1011-5781

(Classification NLM: QW 23)

L'Organisation mondiale de la Santé accueille favorablement les demandes d'autorisation visant à reproduire ou à traduire ses publications, en partie ou intégralement. Les demandes à cet effet et les demandes de renseignements doivent être adressées au Bureau des Publications, Organisation mondiale de la Santé, Genève, Suisse, qui se fera un plaisir de fournir les renseignements les plus récents sur tout changement apporté au texte, les nouvelles éditions envisagées et les réimpressions ainsi que les traductions déjà disponibles.

© Organisation mondiale de la Santé, 1992

Les publications de l'Organisation mondiale de la Santé bénéficient de la protection prévue par les dispositions du Protocole N° 2 de la Convention universelle pour la protection du droit d'auteur. Tous droits réservés.

Les appellations employées dans cette publication et la présentation des données qui y figurent n'impliquent de la part du secrétariat 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.

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

IMPRIMÉ EN SUISSE
92/9286 – Héligraphia SA – 1800

Table des matières

	Page
Remerciements	IV
1. Introduction	1
2. Directives générales pour la sécurité biologique	3
Précautions à observer par le personnel de laboratoire	3
Matériel renversé et accidents	4
Manipulation et élimination du matériel et des déchets contaminés	5
Surveillance médico-sanitaire des employés	6
3. Directives complémentaires pour les laboratoires d'analyse sérologique	7
Locaux et matériel	7
4. Directives complémentaires pour les laboratoires d'isolement du virus	9
Locaux et matériel	9
Précautions au cours des manipulations	9
Surveillance médico-sanitaire des employés	10
5. Directives complémentaires pour les laboratoires de recherche et de production	11
Locaux et matériel	11
Précautions au cours des manipulations	12
Accidents par formation d'aérosols	12
Surveillance médico-sanitaire des employés	12
6. Directives pour la manipulation, le transport et l'expédition des échantillons	13
Transport des échantillons – directives générales	13
Transport des échantillons par un moyen de transport public	14
7. Directives pour le prélèvement des échantillons de sang	17
Pour en savoir plus	18
Annexe 1. Circonstances à risque d'exposition au VIH	19
Annexe 2. Choix et entretien des gants	20
Annexe 3. Stérilisation et désinfection	22
Annexe 4. Traitement des aiguilles et des seringues réutilisables	27
Annexe 5. Hottes de sécurité biologique et autres matériels de confinement	28

Remerciements

Ces directives ont été mises au point par du personnel de l'OMS, du Programme mondial de Lutte contre le SIDA et des Services d'Appui en Microbiologie et Immunologie, et approuvées par les directeurs des Centres collaborateurs OMS pour la sécurité biologique et par un Groupe consultatif pour ces deux programmes.

Des remerciements particuliers sont à adresser aux personnes qui par leurs conseils scientifiques et techniques ont largement contribué à l'élaboration de ces directives:

- Dr C. H. Collins, The Ashes, Hadlow, Kent, Angleterre;
- Mme M. E. Kennedy, Directeur, Centre collaborateur OMS pour les technologies de sécurité biologique et les services consultatifs, Division biosécurité, Laboratoire de lutte contre la maladie, Parc Tunney, Ottawa, Ontario, Canada;
- M. V. R. Oviatt, Biological and Environmental Safety, Pitfour Castle, Glencarse, Perth, Ecosse;
- Dr G. van de Groen, Institut Prince Léopold de Médecine tropicale, Anvers, Belgique.

1. Introduction

Le but de ce guide de sécurité biologique est de donner des directives pour la protection du personnel des laboratoires d'analyse et de recherche, où sont manipulés des virus de l'immunodéficience humaine (VIH) ou des matériels contenant ce virus. Les directives s'appliquent également à la manipulation des agents responsables d'autres maladies transmises par le sang comme le virus de l'hépatite B (HBV). Si ces directives sont applicables dans les pays développés et dans les pays en développement, les conseils concernant le personnel des laboratoires des pays en développement ont fait l'objet d'une attention particulière.

Le risque de contamination par le VIH ou l'HBV au laboratoire, résulte essentiellement de la contamination des mains ou des muqueuses oculaires, nasales et buccales, par du sang ou d'autres liquides biologiques contaminés. Rien n'indique que le VIH ou l'HBV se transmettent par voie aérienne.

D'après les études existantes, la fréquence de l'infection des personnels de laboratoire par le VIH est faible. On estime que le risque d'infection à VIH après exposition percutanée par piqûre avec des aiguilles souillées de sang contaminé par le virus se situe entre 0,13% et 0,5%. Le risque d'infection par l'HBV après un accident de même type est 45 à 120 fois plus grand.

Si le risque professionnel est faible, les conséquences de l'infection par le VIH sont tragiques et le personnel de laboratoire ne doit pas les sous-estimer. Il n'existe aucun vaccin à l'heure actuelle et seules les méthodes de travail non dangereuses permettent de se protéger contre l'infection à VIH professionnelle. L'annexe 1 indique sous forme résumée les circonstances et les personnes à risque ainsi que le mode de transmission du VIH.

Le rôle de la formation à la sécurité au laboratoire est fondamental: il est indispensable que tous les personnels de laboratoire et de soutien reçoivent une formation continue en cours d'emploi sur les mesures de sécurité. Les mauvaises pratiques de laboratoire et l'erreur humaine peuvent anéantir toutes les normes de sécurité et faire d'un matériel de bonne qualité un matériel dangereux.

Les directeurs de laboratoire doivent faire en sorte que le personnel se sente concerné par les questions de sécurité et soit convenablement formé; ils contrôleront en permanence leurs méthodes de travail. Il faut souligner que la sécurité au laboratoire est l'affaire de tous les employés. Les actes ou les conditions de travail dangereux doivent être signalés par les travailleurs à leurs chefs.

Les directives données ici sont structurées autour des mesures de protection élémentaires suivantes:

- Prévention des accidents par piqûre, coupure et excoriation, et protection des blessures existantes, des lésions cutanées, de la conjonctive et des muqueuses.
- Mise en œuvre des mesures de protection simples pour empêcher la contamination de la personne et la souillure de ses vêtements, et des bonnes pratiques d'hygiène élémentaire, notamment le lavage des mains systématique.
- Limitation de la contamination des surfaces par le confinement et la désinfection.
- Destruction appropriée des déchets contaminés.

Les directives relatives à ces mesures de protection élémentaires sont données pour plusieurs niveaux:

- Directives universelles pour la sécurité biologique, applicables à toutes les tâches et à tous les laboratoires, quel que soit leur niveau.
- Directives complémentaires pour:
 - les laboratoires d'analyse sérologique;
 - les laboratoires d'isolement du virus;
 - les laboratoires de recherche et de production.
- Directives pour la manipulation, le transport et l'expédition des échantillons.
- Directives pour le prélèvement des échantillons de sang.

Un plan d'urgence qui décrit les mesures à appliquer en cas d'accident et de renversement de matériel infectieux doit être rédigé et doit pouvoir être consulté par tout le personnel.

Ces directives, comme on l'a indiqué plus haut, s'appliquent plus particulièrement aux laboratoires qui travaillent sur le VIH. Des directives plus générales s'appliquant à la manipulation de tous les micro-organismes infectieux et particulièrement utiles aux laboratoires concernés par des activités variées de recherche et de diagnostic microbiologique sont exposées dans une autre publication de l'OMS.¹

¹ *Manuel de sécurité biologique en laboratoire*. Genève. Organisation mondiale de la Santé, 1984.

2. Directives générales pour la sécurité biologique

Le risque le plus grand pour le personnel de laboratoire est la contamination des mains et des muqueuses oculaires, nasales et buccales, par du sang ou d'autres liquides biologiques infectieux. La contamination se produit à la suite de blessures pénétrantes avec des objets tranchants ou du renversement ou de la projection de matériel venant d'échantillons. Les directives formulées ici indiquent brièvement les pratiques et les mesures destinées à réduire le plus possible le nombre de ces accidents.

Précautions à observer par le personnel de laboratoire

1. Porter des gants pour manipuler du matériel infectieux ou quand il y a une possibilité d'exposition au sang ou à d'autres liquides biologiques. Tous les laboratoires qui travaillent sur du matériel potentiellement contaminé par le VIH doivent disposer d'un stock important de gants de bonne qualité (voir annexe 2).
2. Jeter les gants chaque fois qu'ils ont pu être contaminés, se laver les mains et mettre d'autres gants.
3. Ne toucher ni ses yeux, ni son nez, ni d'autres surfaces cutanéo-muqueuses directement exposées avec les mains gantées.
4. Ne pas quitter le poste de travail et ne pas se déplacer dans le laboratoire avec les gants.
5. Se laver les mains à l'eau et au savon immédiatement après contamination et à la fin de la séance de travail. Si l'on porte des gants, se laver les mains à l'eau et au savon après avoir enlevé les gants (voir aussi annexe 2).
6. Porter une blouse de laboratoire, un tablier ou un uniforme à l'intérieur du laboratoire. Les vêtements de protection enveloppants sont préférables. Enlever le vêtement de protection avant de quitter le laboratoire.
7. Lorsqu'une tâche avec du matériel potentiellement contaminé par le VIH est en cours, fermer la porte du laboratoire et limiter l'accès. La porte doit être munie d'une pancarte «Risque biologique. Entrée interdite».
8. Maintenir le laboratoire propre, en ordre et exempt de tout matériel ou équipement étranger au laboratoire.

9. Désinfecter les plans de travail après chaque tâche et à la fin de chaque journée de travail. Les solutions d'hypochlorite à la concentration de 0,1% en chlore actif (1 g/litre, 1000 ppm) sont de bons désinfectants pour usage général (annexe 3).
10. Eviter chaque fois que possible d'utiliser des aiguilles et d'autres instruments tranchants. Placer le matériel utilisé, aiguilles, seringues, instruments et objets tranchants divers, dans un conteneur spécial pour objets tranchants. Ne pas recapuchonner les aiguilles et ne pas les désadapter après usage.
11. Ne jamais pipeter à la bouche.
12. Procéder à toutes les tâches techniques de manière à diminuer le risque de formation d'aérosols, de gouttelettes, de projections ou de renversement de matériel.
13. Ne pas manger, ni boire, ni fumer, ni se maquiller, ni conserver des aliments ou des objets personnels dans le laboratoire.
14. S'assurer que le laboratoire est couvert par un programme efficace de lutte contre les insectes et les rongeurs. (Cette recommandation fait partie des recommandations universelles pour la sécurité biologique.)

Matériel renversé et accidents

1. Quand du matériel infecté ou potentiellement infecté est renversé il doit d'abord être recouvert avec une matière ou un papier absorbant. Verser ensuite un désinfectant autour du matériel renversé puis sur le support absorbant et attendre 10 minutes. Le désinfectant classique recommandé pour le nettoyage des surfaces contaminées¹ est une solution d'hypochlorite à la concentration de 0,5% de chlore actif (5g/litre, 5000 ppm). Toutefois, une concentration en chlore actif de 1,0% est recommandée aux laboratoires qui travaillent sur les cultures de VIH et les préparations virales. Le mélange de désinfectant et de matériel répandu est éliminé au moyen d'un support absorbant qui sera déposé dans le conteneur pour déchets contaminés. La surface sera ensuite nettoyée de nouveau avec le désinfectant. Porter des gants tout au long de l'opération et éviter le contact direct des gants avec le matériel renversé désinfecté. Les débris de verre ou de matière plastique seront ramassés à la pelle et à la balayette.

¹ *Guide pour les méthodes de stérilisation et la désinfection efficaces contre le virus de l'immuno-déficience humaine (VIH)*. Deuxième édition, Genève, Organisation mondiale de la Santé, 1990 (Série OMS SIDA, N° 2).

2. Après lésion percutanée par piqûre (aiguille ou autre), coupure, contamination de la peau par des projections ou le renversement de matériel venant d'échantillons, laver soigneusement à l'eau et au savon. Il est conseillé de faire saigner toutes les blessures.
3. Tous les accidents, renversements de matériel, et expositions possibles ou avérées avec du matériel infectieux doivent être signalés immédiatement au chef du laboratoire. Tous ces incidents doivent être inscrits dans un registre. Une évaluation médicale, une surveillance, un traitement et si nécessaire un conseil appropriés seront offerts à l'intéressé (voir aussi page 6).

Manipulation et élimination du matériel et des déchets contaminés

1. Le matériel réutilisable tel que les embouts de pipettes, les seringues, les cannules, les aiguilles et les tubes à échantillon seront placés dans un conteneur en matière plastique ou en métal spécial pour objets tranchants présent sur le poste de travail. Le matériel doit être désinfecté chimiquement avant le nettoyage, puis passé à l'autoclave ou désinfecté par ébullition (annexes 3 et 4). Porter des gants pendant la désinfection et le nettoyage.
2. Les blouses et autres vêtements protecteurs de laboratoire qui ont été contaminés seront placés dans un conteneur distinct, situé à l'intérieur du laboratoire. Avant de les réutiliser, ces vêtements de protection doivent être passés à l'autoclave ou désinfectés, puis lavés.
3. Le matériel jetable contaminé, seringues, aiguilles et autres instruments ou objets tranchants, doit être placé dans un conteneur en métal ou en matière plastique spécial pour objets tranchants présent sur le poste de travail. Ce matériel, comme tout matériel contaminé, doit être de préférence désinfecté chimiquement, à l'autoclave ou par ébullition, dans la zone de travail. Sinon, on peut le transporter dans un conteneur étanche soigneusement fermé, de la zone de travail vers un lieu central du laboratoire où il sera immédiatement autoclavé ou incinéré. Si les conteneurs doivent être réutilisés, ils seront auparavant nettoyés et désinfectés.
4. L'incinération est la meilleure méthode d'élimination du matériel et des déchets contaminés si l'incinérateur se trouve dans les locaux du laboratoire et sous son contrôle. Si le matériel doit quitter les locaux, il doit être désinfecté à l'autoclave ou par un autre moyen. Les incinérateurs industriels (température minimale 1300°C) doivent être utilisés; il est souhaitable de toujours utiliser un supplément de combustible pour que la combustion soit complète. Une autorisation doit être demandée aux autorités locales appropriées pour pouvoir faire fonctionner un incinérateur ou se livrer à des opérations d'incinération contrôlée. Les cendres et les débris seront enterrés dans une décharge.

5. L'enfouissement du matériel et des déchets décontaminés dans une décharge contrôlée est la seule solution acceptable quand l'incinération n'est pas possible ou pas permise. On veillera avec beaucoup d'attention à ce que tous les matériels et les déchets éliminés de cette façon aient été stérilisés ou désinfectés et que les seringues et les aiguilles aient été mécaniquement détruites. Le matériel sera déposé dans des tranchées, recouvert de terre et compacté tous les jours. La décharge contrôlée doit être entourée d'une clôture et la visite par des récupérateurs strictement interdite.
6. Le matériel radio-actif ne doit pas être incinéré. Il doit être éliminé conformément à la réglementation et aux codes nationaux.

Surveillance médico-sanitaire des employés

1. Le personnel du laboratoire doit passer un examen clinique initial et un échantillon de sérum destiné à servir de référence sera prélevé et conservé par congélation en cas de besoin ultérieur. Tous les résultats doivent rester confidentiels.
2. Si un travailleur du laboratoire est exposé à du sang, à d'autres liquides biologiques, ou à du matériel de culture virale, soit par voie parentérale, soit par contact muqueux, le matériel source sera si possible examiné à la recherche de virus et/ou d'anticorps. Si le matériel source est positif pour les anticorps anti-VIH, le virus ou l'antigène, ou encore ne peut pas être examiné, une sérologie sera pratiquée chez le sujet accidenté et il lui sera conseillé de signaler toute affection fébrile aiguë survenant dans les 12 semaines après l'exposition et de demander un examen médical. Cette affection – en particulier si elle se caractérise par de la fièvre, un rash ou une adénopathie – peut évoquer une infection à VIH. Le sujet doit alors être suivi; il lui sera recommandé de prendre des précautions générales de prévention de la transmission du VIH et il recevra un conseil approprié. ¹ Devant un résultat négatif, la personne sera testée à nouveau six semaines après l'exposition puis régulièrement par la suite (3 et 6 mois après l'exposition).
3. Toutes les maladies et toutes les absences du personnel du laboratoire seront enregistrées. Les résultats du dépistage VIH chez les employés du laboratoire doivent rester confidentiels.

¹ Pour plus ample information voir: *Guide pour le conseil dans l'infection à VIH et le SIDA*. Genève, Organisation mondiale de la Santé, 1991 (Série OMS SIDA, N° 8).

3. Directives complémentaires pour les laboratoires d'analyse sérologique

En ce qui concerne les laboratoires effectuant des analyses sérologiques, les directives universelles pour la sécurité biologique doivent être complétées par les règles suivantes s'appliquant à l'aménagement et au matériel de ces laboratoires.

Locaux et matériel

1. Il est souhaitable que les manipulations sur du matériel dont on sait qu'il est contaminé par le VIH soient réalisées dans un laboratoire distinct ou une pièce distincte, exclusivement réservés à ce travail. En cas d'impossibilité, on réservera dans le laboratoire une zone de travail isolée et nettement délimitée.
2. Les hottes de sécurité biologique sont inutiles pour les analyses sérologiques sur du matériel potentiellement contaminé par le VIH. Des lunettes et un masque de protection ou un autre système de protection seront utilisés si nécessaire pour protéger les yeux et le visage contre les projections de liquide et d'objets.
3. L'espace disponible doit être important pour qu'on puisse opérer en toute sécurité.
4. Les murs, le plafond et le sol doivent être lisses, faciles à nettoyer, imperméables et résistants aux produits chimiques et aux désinfectants utilisés normalement dans le laboratoire. Le sol ne doit pas être glissant.
5. Les paillasse doivent être imperméables et résistantes aux désinfectants, aux acides, aux alcalis, aux solvants organiques, et capables de supporter une chaleur modérée.
6. Le mobilier de laboratoire doit être robuste et facile à nettoyer.
7. Chaque pièce du laboratoire sera munie d'un évier, situé de préférence près de la porte.
8. Les portes qui donnent accès aux pièces du laboratoire doivent se fermer automatiquement et être munies d'un panneau transparent.
9. Il n'y a pas de réglementation particulière en ce qui concerne la ventilation. Un système de ventilation mécanique n'est pas nécessaire. Les fenêtres qui s'ouvrent seront munies de moustiquaires.

10. Un autoclave pour la décontamination du matériel de laboratoire et des déchets infectieux doit être disponible dans le même bâtiment que le laboratoire travaillant sur le VIH.
11. Des installations pour déposer les vêtements et les objets personnels, ainsi qu'un endroit pour manger, pour boire et pour fumer doivent être prévus à l'extérieur de la pièce de travail.

4. Directives complémentaires pour les laboratoires d'isolement du virus

En ce qui concerne les laboratoires qui pratiquent l'isolement du virus, les directives générales pour la sécurité biologique données au chapitre 2 doivent être complétées par les mesures suivantes qui s'appliquent à l'aménagement et au matériel du laboratoire, et par des directives complémentaires sur les précautions à prendre pendant les manipulations et sur la surveillance médico-sanitaire des employés, conformément aux recommandations ci-dessous. Ce renforcement des directives générales est nécessaire dans la mesure où les travailleurs risquent d'avoir à manipuler du matériel à forte concentration virale.

Locaux et matériel

1. Les normes qui s'appliquent à l'aménagement de ces laboratoires sont identiques à celles qui concernent les laboratoires pratiquant la sérologie (p. 7). Il est hautement souhaitable qu'un laboratoire ou une pièce du laboratoire soit consacré exclusivement au travail sur le matériel contaminé par le VIH. Il faudra peut-être de l'espace pour installer des hottes de sécurité biologique ou une cabine munie d'un ventilateur aspirant, ainsi que pour le matériel indispensable, tel que réfrigérateur, centrifugeuse et incubateur.
2. Les hottes de sécurité biologique sont le matériel de sécurité idéal pour la manipulation des germes infectieux et celles qui donnent lieu à la formation d'aérosols ou de gouttelettes. Cependant, ces hottes peuvent devenir inefficaces et potentiellement dangereuses pour l'opérateur si elles ne sont pas installées convenablement ni testées et entretenues régulièrement (annexe 5).
3. Les manipulations réalisées normalement sous une hotte de sécurité biologique peuvent être conduites dans une cabine munie d'un ventilateur aspirant (annexe 5).
4. On utilisera des pots à centrifuger fermant hermétiquement (de sécurité) ou des rotors hermétiquement couverts pour empêcher la dispersion accidentelle de matériel à partir de la centrifugeuse. Le chargement et le déchargement se feront sous une hotte de sécurité biologique ou un autre dispositif de confinement physique.

Précautions au cours des manipulations

1. L'accès du laboratoire sera en permanence limité aux personnes dont la présence est indispensable aux besoins du programme ou du soutien.

2. Toutes les tâches qui impliquent la manipulation de cultures cellulaires infectées, de matériel contaminé par le virus à haute concentration, ou la formation d'aérosols et de gouttelettes, doivent être réalisées à l'abri de systèmes de confinement physique, comme par exemple les hottes de sécurité biologique, ou en utilisant des pots à centrifuger et des rotors hermétiquement fermés.
3. Le personnel doit porter un vêtement ou une blouse de laboratoire propre à l'entrée au laboratoire. Ce vêtement doit être changé s'il est contaminé ou souillé; les blouses de laboratoire et les vêtements de protection doivent être retirés et laissés dans le laboratoire chaque fois que le travailleur sort, quelle qu'en soit la raison.

Surveillance médico-sanitaire des employés

L'examen médical de tous les personnels du laboratoire est indispensable. Un échantillon de sérum destiné à servir de référence sera prélevé et conservé par congélation en cas de besoin ultérieur (voir p. 6).

5. Directives complémentaires pour les laboratoires de recherche et de production

En ce qui concerne les laboratoires qui travaillent sur (ou qui produisent) moins de 10 litres de suspension virale à un moment donné, les directives universelles pour la sécurité biologique exposées au chapitre 2 doivent être complétées par les mesures suivantes qui s'appliquent à l'aménagement et au matériel, et par des directives complémentaires sur les précautions à prendre pendant les manipulations et contre les renversements de matériel et les accidents, ainsi que sur la surveillance médico-sanitaire des employés, conformément aux recommandations ci-dessous. Ce renforcement des directives générales est nécessaire dans la mesure où les manipulations impliquent la formation de matériels contenant le virus à concentration élevée et la manipulation de préparations virales concentrées.

Locaux et matériel

1. L'entrée du laboratoire par les couloirs d'accès doit être munie d'une double porte et se présenter comme un vestibule à double porte, un vestiaire à double porte, un sas à air ou un autre dispositif physique de même type.
2. Les surfaces intérieures de la pièce (sol, murs, plafond) doivent être imperméables et faciles à nettoyer. Les orifices pratiqués dans ces surfaces, par exemple pour les tuyaux, les canalisations et les tubes électriques, doivent être hermétiquement fermés pour faciliter la décontamination de cette zone.
3. Un évier avec commande à pied, par le genou, par le coude, ou automatique, sera placé près de la porte de sortie.
4. Les portes d'accès doivent se fermer automatiquement.
5. Les fenêtres du laboratoire doivent rester hermétiquement fermées.
6. Un système de ventilation aspirante par conduite doit être installé pour créer un flux d'air directionnel qui fait pénétrer l'air dans le laboratoire par l'entrée et maintient le laboratoire en pression négative par rapport à l'extérieur. L'air qui sort de la pièce ne doit pas être remis en circulation mais évacué à l'extérieur au moyen d'un système d'évacuation scellé, spécialement conçu à cet effet, situé loin des zones occupées et des prises d'air. L'air qui sort de la pièce peut être évacué directement à l'extérieur sans passer sur un filtre HEPA (*high-efficiency particulate air*) ou sans autre traitement, s'il n'est pas évacué par le système de ventilation du bâtiment. S'il existe un système mécanique d'apport d'air, il doit être couplé au système mécanique d'évacuation

pour empêcher une augmentation de pression dans le laboratoire en cas de panne du ventilateur aspirant.

7. L'air qui sort des hottes de sécurité biologique après filtration sur filtre HEPA doit être évacué directement à l'extérieur ou par le système d'évacuation de l'air du bâtiment. L'air qui sort de la hotte peut être remis en circulation dans le laboratoire à condition que la hotte soit régulièrement contrôlée et que sa sécurité ait été garantie dans les 12 mois précédents. Si l'air qui sort de la hotte est évacué par le système d'aspiration de l'air du bâtiment, le système d'évacuation de la hotte doit être relié de manière à éviter toute perturbation de l'équilibre qui règne dans la hotte et dans le système d'aspiration du bâtiment, au moyen par exemple d'une bague d'assemblage.
8. Un autoclave pour la décontamination des déchets du laboratoire doit être disponible dans le laboratoire ou dans le même bâtiment.
9. On utilisera des pots à centrifuger fermant hermétiquement (pots de sécurité) ou des rotors également fermés hermétiquement. Ils seront chargés et ouverts sous la hotte de sécurité biologique.

Précautions au cours des manipulations

1. L'accès du laboratoire sera en permanence limité aux seules personnes dont la présence est indispensable pour les besoins du programme ou du soutien.
2. Toutes les tâches qui impliquent la manipulation de cultures cellulaires infectées, de matériel contenant du virus à concentration élevée, ou la formation d'aérosols ou de gouttelettes, doivent être réalisées sous une hotte de sécurité biologique (annexe 5).

Accidents par formation d'aérosols

En cas d'accident entraînant la formation d'un aérosol (explosion d'une centrifugeuse ou d'un homogénéisateur), tous les travailleurs du laboratoire doivent retenir leur respiration et quitter la pièce immédiatement, fermer la porte et signaler l'incident au chef du laboratoire. Le système d'aspiration de l'air de la pièce et les hottes de sécurité biologique doivent rester en marche pour ventiler le laboratoire. Il est possible, en étant protégé par des vêtements appropriés, d'entrer de nouveau dans le laboratoire 30 minutes plus tard pour désinfecter la pièce et le matériel souillé.

Surveillance médico-sanitaire des employés

1. L'examen médical de tous les personnels du laboratoire est indispensable. Un échantillon de sérum de référence sera prélevé et conservé par congélation en cas de besoin ultérieur (voir page 6).

6. Directives pour la manipulation, le transport et l'expédition des échantillons

La manipulation, le transport et l'expédition d'échantillons mal emballés font courir un risque d'infection à toutes les personnes qui participent directement ou indirectement à toutes ces opérations. Une mauvaise manipulation dans le laboratoire met en danger non seulement les travailleurs du laboratoire immédiatement concernés, mais également tous les personnels de soutien, notamment le personnel administratif et de secrétariat. Le transport d'échantillons entre les laboratoires et les établissements élargit le risque au public et au personnel des services postaux et de transport.

Transport des échantillons – directives générales

1. Les récipients destinés au transport des échantillons doivent être étanches et en matière plastique ou en verre incassable. Il est préférable de fermer les récipients avec un bouchon à vis.
2. Après que le récipient ait été fermé et scellé il doit être nettoyé extérieurement avec un désinfectant – solution d'hypochlorite à 0,1% de chlore actif (1 g/litre, 1000 ppm) – puis séché.
3. Avant d'ouvrir le récipient reçu, le nettoyer avec un désinfectant comme indiqué ci-dessus.
4. Dans le laboratoire et dans l'établissement de soins, les récipients contenant des échantillons doivent être placés sur des portoirs pour être maintenus en position verticale. Les portoirs doivent ensuite être transportés dans un conteneur étanche en matière plastique ou en métal qui empêchera le liquide renversé ou ayant fui de se répandre.
5. Les récipients des échantillons placés dans les portoirs et transportés de leur lieu de prélèvement sur le terrain ou d'un laboratoire à l'autre dans un véhicule qui répond aux normes de sécurité des laboratoires doivent être placés dans des boîtes étanches en matière plastique ou en métal, munies d'un couvercle étanche et sûr.
6. Le transport et la conservation dans des cryoconservateurs à azote liquide ayant une autonomie importante peuvent être nécessaires dans certaines régions où la distribution de l'électricité n'est pas fiable.

Transport des échantillons par un moyen de transport public

Le Comité ONU d'experts en matière de transport des marchandises dangereuses, l'Association du Transport aérien international (IATA), l'Union postale universelle (UPU), l'Organisation de l'Aviation civile internationale (OACI) et l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) ont élaboré une réglementation applicable à l'expédition des échantillons par la poste, par avion et par d'autres moyens de transport publics. Il est possible de les résumer ainsi:

1. L'échantillon est placé dans un récipient étanche, en verre ou en matière plastique de bonne qualité. La fermeture doit être étanche pour empêcher les fuites. Les bouchons, avec ou sans vis, doivent être maintenus en place au moyen de fil de fer, de ruban adhésif ou d'un autre moyen fiable.
2. Le récipient qui contient l'échantillon (le récipient primaire) doit être enveloppé dans une quantité de matériel absorbant (papier absorbant, coton, ouate de cellulose) telle qu'il pourra absorber la totalité du liquide en cas de fuite (Fig. 1a).
3. Le récipient de l'échantillon ainsi enveloppé est placé dans un autre récipient résistant et étanche (le récipient secondaire). Plusieurs récipients primaires enveloppés peuvent être placés dans ce deuxième récipient étanche. On utilisera suffisamment de matériel absorbant (en plus du matériel nécessaire au paragraphe 2 ci-dessus) pour protéger des chocs les récipients primaires placés à l'intérieur de ce deuxième récipient (Fig. 1b).
4. Ce deuxième récipient est placé dans un emballage suffisamment solide pour protéger son contenu des dommages physiques pendant le transport (Fig. 1c).
5. Avant d'envoyer les échantillons, l'expéditeur, le transporteur et le laboratoire destinataire doivent prendre les mesures nécessaires concernant l'expédition, la réception, etc.
6. Une fiche d'information sur l'échantillon, une lettre ou toute autre information qui identifie ou décrit l'échantillon doit être fixée à l'extérieur du récipient étanche secondaire (Fig. 1d).
7. La réglementation nationale et internationale applicable aux expéditions et au transport doit être observée.

Fig. 1. Récipient recommandé pour l'emballage d'échantillons potentiellement infectés par le VIH, destinés à être envoyés par la poste, par avion ou par d'autres moyens de transport public.



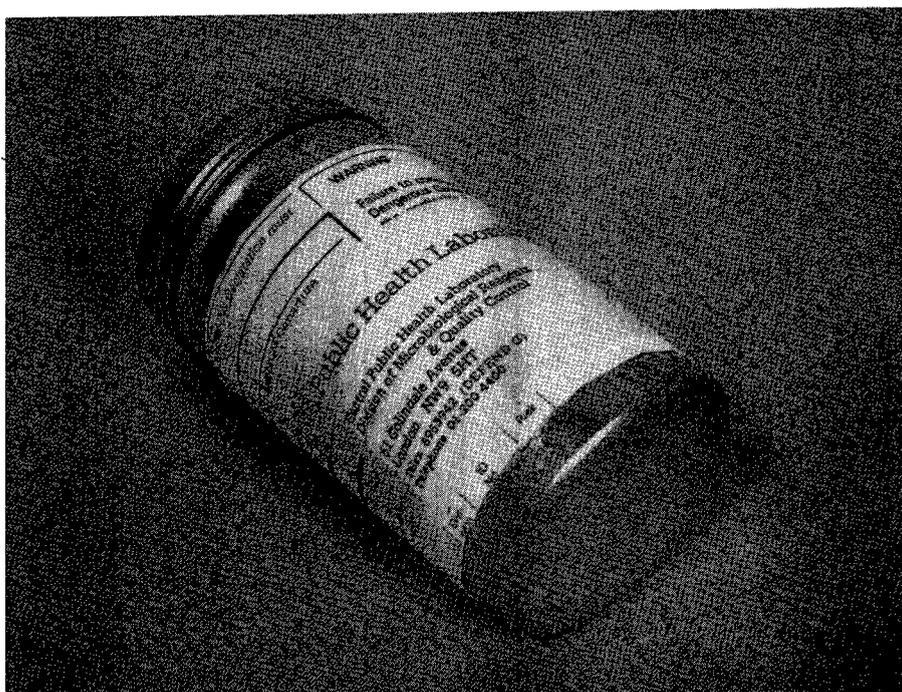
a) Récipient de l'échantillon enveloppé dans du matériel absorbant.



b) Récipient de l'échantillon enveloppé, placé dans un récipient étanche et solide.



c) Récipient secondaire placé dans un emballage suffisamment résistant.



d) Fiche d'information sur l'échantillon, fixée sur le récipient secondaire.

7. Directives pour le prélèvement des échantillons de sang

Les risques majeurs d'exposition à l'occasion du prélèvement des échantillons de sang sont la contamination des mains par le sang pendant le prélèvement, et les blessures par agent vulnérant, aiguilles et autres instruments ou objets tranchants. Les directives suivantes indiquent les pratiques et les mesures destinées à réduire le nombre de ces accidents.

1. Examiner les mains à la recherche de coupures, d'égratignures ou d'autres lésions cutanées. En cas de lésion, porter des gants. Si les gants sont souillés de sang, les jeter.
2. Veiller à éviter la contamination des mains pendant les prélèvements de sang.
3. Se laver les mains à l'eau et au savon immédiatement après contamination par du sang et après le travail.
4. Si vous portez des gants, lavez-vous les mains à l'eau et au savon après avoir retiré les gants.
5. Porter une blouse de laboratoire.
6. Placer les aiguilles et les seringues utilisées dans un conteneur spécial pour objets piquants. Ne pas recapuchonner les aiguilles utilisées. Ne pas désadapter les aiguilles après emploi. Ne pas utiliser d'appareil à sectionner les aiguilles.
7. Fermer hermétiquement les récipients des échantillons. Nettoyer l'extérieur du récipient avec un désinfectant, par exemple une solution d'hypochlorite à la concentration de 0,1% de chlore actif (1g/litre, 1000 ppm) pour le débarrasser du sang qui pourrait le contaminer (annexe 3).
8. En cas de piqûre avec une aiguille ou de lésion cutanée quelconque, laver soigneusement à l'eau et au savon. Faire saigner.
9. Signaler au chef de laboratoire et au service médical toute contamination des mains ou du corps par du sang et toute coupure ou piqûre.

Pour en savoir plus

Advisory Committee on Dangerous Pathogens. *LAV/HTLV-III – the causative agent of AIDS and related conditions*. Londres. Her Majesty's Stationery Office, 1986.

AIDS guidelines for microbiology laboratory. Ottawa, Laboratoire de lutte contre la maladie, 1986.

AIDS Task Force, *Laboratory biosafety guidelines*. Canberra, Government Publishing Service, 1986.

Centers for Disease Control and National Institutes of Health. *Biosafety in microbiological and biomedical laboratories*. Atlanta, GA. US Department of Health and Human Services, 1988 (HSS Publication N° (CDC) 88-8395).

Collins, C.H. *Laboratory-acquired infections: history, incidence, causes and prevention*, second edition. Londres, Butterworths, 1988.

Guide pour les méthodes de stérilisation et de désinfection efficaces contre le virus de l'immunodéficience humaine, deuxième édition. Genève, Organisation mondiale de la Santé, 1990 (Série OMS SIDA N° 2).

Manuel de sécurité biologique en laboratoire. Genève, Organisation mondiale de la Santé, 1984.

Working safety with HIV in the research laboratory. Bethesda, MD. National Institutes of Health, 1988.

Circonstances à risque d'exposition au VIH

Circonstance	Personne à risque	Mode de transmission
Prélèvement des échantillons de sang	Patient	<ul style="list-style-type: none"> – Aiguille contaminée – Mains ou gants de l'intervenant contaminés
	Intervenant	<ul style="list-style-type: none"> – Lésion percutanée avec aiguille ou débris du récipient de l'échantillon – Contamination des mains par le sang
Transport des échantillons (à l'intérieur du laboratoire)	Personnel de laboratoire Personnel de transport	<ul style="list-style-type: none"> – Extérieur du récipient contaminé – Récipient brisé – Échantillon renversé ou projections
Recherche sérologique et virologique du VIH	Personnel de laboratoire	<ul style="list-style-type: none"> – Piqûre ou contamination cutanéo-muqueuse – Extérieur du récipient de l'échantillon contaminé – Plan de travail contaminé – Échantillon renversé ou projections – Récipient de l'échantillon brisé – Gants percés
Nettoyage et entretien	Personnel de laboratoire Personnel de soutien	<ul style="list-style-type: none"> – Piqûre ou contamination cutanée – Liquide renversé ou projections – Plan de travail contaminé
Élimination des déchets	Personnel de laboratoire Personnel de soutien Personnel de transport Public	<ul style="list-style-type: none"> – Contact avec des déchets contaminés – Piqûre et coupure
Expédition des échantillons (vers d'autres centres)	Personnel de transport Personnel des postes Public	<ul style="list-style-type: none"> – Récipient de l'échantillon ou emballage brisés ou qui fuient

Choix et entretien des gants

Le port des gants est en général recommandé aux personnels de laboratoire qui manipulent des échantillons de sang ou d'autres liquides susceptibles d'être infectés par le VIH. Les gants diminuent le risque de contamination des mains par le sang, mais n'empêchent pas les accidents percutanés par piqûre ou coupure dus aux aiguilles, à d'autres instruments vulnérants, ou aux débris de verre et de matière plastique. Il importe de rappeler que les gants sont destinés à compléter et non à remplacer les bonnes pratiques de lutte contre l'infection, y compris le lavage des mains.

Concernant l'utilisation des gants au laboratoire, il convient de prendre les précautions générales suivantes:

1. Porter des gants pour toute manipulation de matériels potentiellement infectieux. Les laboratoires qui travaillent sur le VIH doivent être largement approvisionnés en gants de bonne qualité, et le budget sera prévu en conséquence.
2. Jeter les gants chaque fois qu'ils ont pu être contaminés; se laver les mains et mettre de nouveaux gants.
3. Ne toucher ni ses yeux, ni son nez, ni d'autres surfaces cutanéo-muqueuses directement exposées avec les mains gantées.
4. Ne pas quitter le poste de travail et ne pas se déplacer dans le laboratoire avec les gants.
5. Se laver les mains après avoir retiré les gants.

Choix des gants

Les gants d'examen non stériles, en vinyle ou en latex, conviennent à l'usage au laboratoire. Ce sont des gants à usage unique. Les gants en matière plastique à usage général désignés par le terme de gants en caoutchouc ou gants de ménage sont satisfaisants pour le nettoyage du matériel, la décontamination et les activités qui ne demandent pas de dextérité manuelle. Ces gants sont réutilisables.

Entretien des gants

1. Les gants de chirurgie et les gants d'examen sont des gants à usage unique. Cependant, dans certains cas, ces gants devront être réutilisés. On pourra alors procéder de la façon suivante:
 - a) Se rincer soigneusement les mains couvertes des gants dans une solution d'hypochlorite (0,1% de chlore actif) (annexe 3).
 - b) Rincer à l'eau claire pour éliminer le désinfectant (les désinfectants risquent d'endommager les gants).
 - c) Laver ensuite à l'eau et au savon et rincer soigneusement (les détergents peuvent rendre les gants perméables, c'est-à-dire favoriser la pénétration des liquides à travers des fissures qui passent inaperçues).
 - d) Retirer les gants et les suspendre par la manchette pour les faire sécher.
 - e) Se laver les mains.
 - f) Rechercher la présence de trous dans les gants avant de les réutiliser: remplir chacun des gants avec 325 ml \pm 25 ml d'eau à température ambiante, tordre la manchette sur 360°, et placer les gants sur un portoir pendant deux minutes; rechercher les fuites, au toucher et à la vue. Si possible poudrer les gants avec du talc avant de les réutiliser.
2. Les gants utilitaires à usage général sont réutilisables mais doivent être jetés s'ils s'écaillent, se craquellent, sont décolorés, percés ou déchirés ou s'ils ont d'autres signes de détérioration. Les gants utilitaires peuvent être réutilisés après le traitement suivant.
 - a) Se rincer soigneusement les mains couvertes des gants dans une solution d'hypochlorite (0,1% de chlore actif) (annexe 3).
 - b) Rincer à l'eau claire pour éliminer le désinfectant.
 - c) Laver ensuite à l'eau et au savon et rincer soigneusement.
 - d) Retirer les gants et les suspendre par la manchette pour les faire sécher.
 - e) Se laver les mains.
 - f) Vérifier que les gants n'ont pas de trou, comme indiqué au paragraphe 1.f) ci-dessus.

Stérilisation et désinfection ¹

Le VIH est inactivé par la stérilisation et par les désinfectants utilisés couramment dans les laboratoires et les établissements de soins à des concentrations inférieures à celles employées couramment en pratique générale. La chaleur est la méthode d'inactivation du VIH la plus efficace et par conséquent le passage à l'autoclave ou l'ébullition sont les méthodes idéales, en particulier pour les instruments médicaux et le matériel de laboratoire réutilisable. Les désinfectants chimiques sont moins fiables, mais ils sont extrêmement utiles pour la décontamination générale dans les laboratoires.

Il est impératif de désinfecter et de nettoyer soigneusement tout le matériel et les instruments réutilisables avant de les retraiter.

Stérilisation par la vapeur

La stérilisation par la vapeur (autoclavage) est la méthode qui convient le mieux au matériel réutilisable, notamment aux aiguilles et aux seringues. Les autoclaves et les stérilisateur type autocuiseur doivent être maintenus au moins 20 minutes à 121°C (250°F); cette température est l'équivalent d'une pression d'une atmosphère (101 kPa, 15 lb/in²) au-dessus de la pression atmosphérique. Ne pas surcharger l'autoclave.

L'autoclave peut être remplacé par l'autocuiseur modifié mis au point par l'OMS et l'UNICEF dont le coût est peu élevé.²

Stérilisation par la chaleur sèche

La stérilisation par la chaleur sèche convient aux instruments et au matériel qui supportent 170°C (340°F). Le matériel en plastique risque de ne pas supporter cette température. Un four ordinaire suffit pour stériliser par la chaleur sèche. La stérilisation est obtenue par un séjour d'au minimum 2 heures à 170°C (340°F).

¹ D'après *Guide pour les méthodes de stérilisation et de désinfection efficaces contre le virus de l'immunodéficience humaine*, 2^e éd. Genève. Organisation mondiale de la Santé, 1990 (Série OMS SIDA N° 2).

² Pour plus ample information s'adresser à: Programme élargi de Vaccination (PEV), Organisation mondiale de la Santé, 1211 Genève 27 (Suisse) ou UNIPAC (Centre d'achat et de distribution de l'UNICEF), Freeport, DK 2100, Copenhague (Danemark).

Ebullition

Quand on ne dispose pas d'un autoclave, le moyen le plus simple et le plus fiable d'inactiver la plupart des germes pathogènes, y compris le VIH, est l'ébullition. On obtient une désinfection efficace des instruments et du matériel après ébullition continue pendant 20 à 30 minutes.

Désinfection chimique

Un grand nombre de désinfectants recommandés dans les établissements de soins inactivent *in vitro* le VIH. En pratique, cependant, des désinfectants chimiques peuvent ne pas être fiables, car ils risquent d'être inactivés par le sang ou par d'autres substances organiques présentes. En outre, ils doivent être préparés soigneusement. Ils peuvent de plus perdre rapidement leurs propriétés désinfectantes, surtout s'ils sont conservés au chaud.

La désinfection chimique ne doit pas être utilisée pour les aiguilles ni pour les seringues. La désinfection chimique des autres instruments tranchants et invasifs ne sera employée qu'en dernier ressort, si ni la stérilisation ni une désinfection efficace par ébullition ne sont possibles; deux autres conditions sont alors nécessaires: il faut que le produit chimique soit utilisé à la concentration et au degré d'activité appropriés, et que les instruments aient été soigneusement nettoyés avant de les immerger dans le désinfectant chimique quand la contamination est importante. En effet, il est alors nécessaire d'éliminer préalablement la plus grande partie du contaminant car le désinfectant ne pénètre pas à l'intérieur de certaines substances organiques, sang coagulé ou séché par exemple. Les instruments qui ne sont pas vulnérants seront grossièrement essuyés avant d'être plongés dans le désinfectant, car la solution de désinfectant pourrait être diluée et perdre son efficacité si on y plongeait à plusieurs reprises des instruments mouillés.

1. Hypochlorite de sodium

Les solutions d'hypochlorite de sodium (eau de javel, etc.) sont d'excellents désinfectants universels. Un désinfectant à usage général pour le laboratoire, utilisable pour nettoyer les paillasse, les récipients des échantillons, les gants, etc., est une solution ayant une concentration de 0,1% de chlore actif (1 g/l, 1000 ppm). Pour désinfecter du matériel fortement souillé ou du sang renversé on utilise au laboratoire une solution plus forte, dont la concentration est de 1,0% de chlore actif (10 g/l, 10 000 ppm).

Concentration désirée en chlore actif	Dilution des solutions d'hypochlorite de sodium (parties de solution mère: parties d'eau)		
	Solution mère à 5%	Solution mère à 10%	Solution mère à 15%
0,1% (1 g/l, 1000 ppm)	1:50	1:100	1:150
1,0% (10 g/l, 10 000 ppm)	1:5	1:10	1:15

La préparation des solutions d'hypochlorite de sodium demande de l'attention car la quantité de chlore actif dans les solutions mères varie avec le pays de fabrication. Dans certains pays la concentration de l'hypochlorite de sodium est exprimée en degrés chlorométriques (° chlorom.); 1° chlorom. est à peu près l'équivalent de 0,3% de chlore actif.

- Les agents de décoloration domestiques contiennent en général 5% de chlore actif.
- L'eau de javel (15° chlorom.) contient environ 5% de chlore actif.
- L'eau de javel (48° chlorom.) contient environ 15% de chlore actif.
- Le chlorure de chaux contient environ 35% de chlore actif.

Les solutions d'hypochlorite de sodium perdent peu à peu leur activité et il faut donc que les solutions soient nouvellement préparées chaque jour. Le sang, le sérum et les autres substances protéiques neutralisent l'efficacité des solutions d'hypochlorite. Il est indispensable de les remplacer régulièrement.

2. Hypochlorite de calcium

L'hypochlorite de calcium existe sous forme de poudre, de granulés ou de comprimés. Il se décompose plus lentement que l'hypochlorite de sodium. Il est normalement préparé à la concentration de 70% de chlore actif. A cette concentration, on obtient une solution à 0,1% de chlore actif en dissolvant 1,4 g de produit sec dans un litre d'eau. La solution à 1,0% s'obtient en dissolvant 14 g de produit sec dans un litre d'eau.

3. Dichloro-isocyanurate de sodium (NaDCC)

Le NaDCC se présente normalement en comprimés à 60% de chlore actif. A cette concentration, on obtient une solution à 0,1% de chlore actif en dissolvant 1,7 g de produit dans un litre d'eau. On obtient une solution à 1,0% en dissolvant 17 g de produit dans un litre d'eau.

Il existe également des comprimés contenant 1,5 g de chlore actif par comprimé. Un comprimé dissout dans un litre d'eau donne une solution à 0,1%.

Le NaDCC est plus stable que l'hypochlorite de sodium et de calcium.

4. Chloramine

La chloramine existe en poudre et en comprimés. Normalement, elle est présentée à la concentration de 25% de chlore actif. Dans la mesure où elle libère le chlore plus lentement que les autres composés chlorés, la concentration doit être plus élevée pour que la désinfection soit efficace.

La solution recommandée comme désinfectant général est constituée par 20 g de substance mère dans 1 litre d'eau; une solution contenant 40 g de substance mère dans 1 litre d'eau est recommandée pour la désinfection du matériel fortement souillé, du sang renversé, etc.

La chloramine est plus stable que l'hypochlorite de sodium et de calcium.

5. Ethanol (alcool éthylique) et 2-propanol (alcool isopropylique)

L'éthanol et le 2-propanol sont des désinfectants efficaces, des surfaces en particulier, telles que l'extérieur des récipients à échantillon et les paillasses. Pour obtenir l'efficacité maximale, il faut une concentration de 70% (70% d'alcool, 30% d'eau).

6. Polyvidone iodée (PVI)

L'activité désinfectante des composés iodés est semblable à celle des solutions d'hypochlorite. Les iodophores sont plus stables et moins corrosifs mais coûteux (ils ne doivent toutefois pas être utilisés sur l'aluminium et le cuivre).

7. Formol

Le formol est un excellent désinfectant mais son utilisation est limitée car la solution et les gaz dégagés sont toxiques et très irritants. Le formol contient 35 à 40% de formaldéhyde, 10% de méthanol et de l'eau. Il doit être dilué au 1:10 (pour donner une solution contenant 3,5 à 4% de formaldéhyde) pour la désinfection. Rincer le matériel avant de le réutiliser.

8. Glutaraldéhyde

Le glutaraldéhyde est un désinfectant très puissant souvent utilisé pour désinfecter le matériel et les instruments réutilisables qui craignent la chaleur. Il est ordinairement présenté en solution aqueuse à 2%. Ajouter la poudre ou le liquide fournis avec la solution pour l'activer.

Le séjour dans la solution activée détruit les formes végétatives des bactéries, les champignons et les virus en moins de 30 minutes. La destruction des spores nécessite dix heures de trempage. Le matériel traité doit être soigneusement rincé.

Les solutions activées ne doivent pas être conservées plus de deux semaines (se conformer aux instructions du fabricant).

Traitement des aiguilles et des seringues réutilisables

On préfère en général utiliser des seringues et des aiguilles à usage unique, jetables, quels que soient les actes de soins aux patients ou les manipulations au laboratoire. Pour aspirer les liquides, on utilisera des aiguilles verrouillables sur les seringues ou des modèles d'un seul tenant (jetables ou réutilisables de façon à ce que le liquide aspiré puisse éventuellement être évacué en toute sécurité par l'aiguille. Dans certains cas, cependant, on devra recourir pour des raisons économiques et pratiques à des aiguilles et des seringues adaptées à la réutilisation et à la stérilisation. Dans ce cas, il est impératif de décontaminer les aiguilles et les seringues avant de les retraiter et de les réutiliser.

Les seringues et les aiguilles réutilisables seront traitées de la façon suivante. Remarquer que le port de gants est obligatoire, et qu'une extrême attention est nécessaire pour éviter les accidents par piqûre d'aiguille et/ou coupure.

- Ne pas désadapter l'aiguille.
- Aspirer une solution d'hypochlorite ou d'un autre désinfectant adapté, contenant 0,1% de chlore actif (annexe 3).
- Immerger la seringue munie de son aiguille dans la solution de désinfectant, en position horizontale, dans un plateau.
- Laisser dans la solution de désinfectant pendant 20 minutes.
- Evacuer la solution de désinfectant de la seringue et de l'aiguille.
- Rincer la seringue et l'aiguille à l'eau par aspirations et refoulements successifs.
- Examiner les aiguilles et les seringues pour voir si les aiguilles ne portent pas de barbelure, si le joint de la seringue (l'anneau en caoutchouc) est en bon état, si le cône de l'aiguille s'adapte bien à la seringue, si les chiffres inscrits sur la seringue sont lisibles, etc.
- Stériliser aiguilles et seringues à l'autoclave (stérilisation à la vapeur) ou désinfecter par ébullition dans l'eau pendant 20 minutes avant de réutiliser (annexe 3).

Hottes de sécurité biologique et autres matériels de confinement

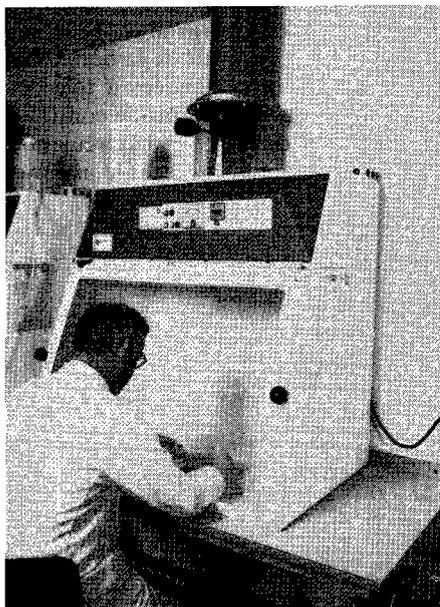
Rien n'indique que le VIH et d'autres virus soient transmis par inhalation. Il n'existe pas non plus d'arguments en faveur de la transmission des hépatites B par inhalation d'aérosols. Il a en outre été mis en évidence que les aérosols se forment très difficilement à partir du sang, à cause de la taille et de la viscosité de ses composants. La protection contre les aérosols au moyen de hottes de sécurité biologique ou d'autres dispositifs de confinement n'est par conséquent pas strictement nécessaire dans les laboratoires qui pratiquent la sérologie et le dépistage sur le sang. Par contre, les hottes de sécurité biologique ou d'autres dispositifs de confinement sont recommandés pour le traitement des échantillons qui peuvent contenir d'autres germes pathogènes exigeant ce confinement, pour l'isolement du virus, et lorsque le VIH est concentré ou purifié en quantité supérieure à celle rencontrée à l'occasion du diagnostic, par exemple pour la production et la manipulation de VIH concentré.

Les hottes de sécurité biologique (classe I ou II, voir plus loin) et les autres dispositifs appropriés de protection individuelle ou de confinement physique (vêtements protecteurs spéciaux, masques, gants, lunettes de protection, masques respiratoires, pots à centrifuger de sécurité, rotors de centrifugeuse fermés hermétiquement) sont recommandés dans les cas suivants:

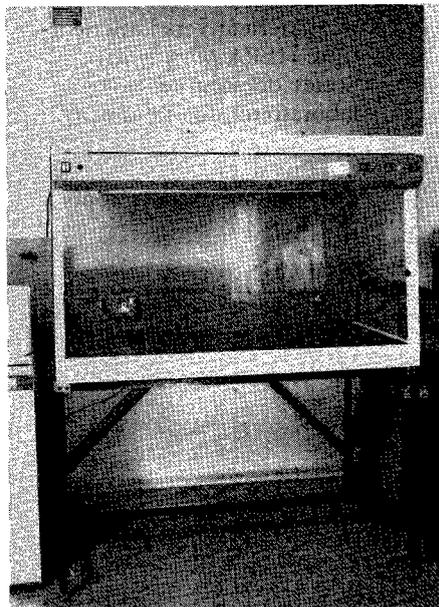
1. Quand les manipulations comportent un risque potentiel élevé de formation d'aérosols infectieux. Il s'agit notamment d'opérations comme la centrifugation, le broyage, le mixage, l'agitation ou le mélange énergiques, la dissociation par les ultrasons, et l'ouverture de récipients contenant du matériel infectieux dont la pression intérieure est différente de la pression atmosphérique.
2. Quand les agents infectieux sont manipulés en grande quantité ou à forte concentration. Si la centrifugation du matériel a lieu directement dans le laboratoire, il convient d'utiliser des pots à centrifuger de sécurité ou des couronnes hermétiquement fermées, remplis et vidés exclusivement sous une hotte de sécurité biologique.

Une hotte de sécurité biologique de classe I est une enceinte ouverte devant pour réaliser les manipulations, et ventilée par aspiration pour assurer la protection de l'opérateur et de son environnement en créant un flux d'air de l'extérieur vers l'intérieur. L'air qui sort du plan de travail est filtré sur filtre HEPA (*high-efficiency particulate air*) avant de sortir de la hotte. Les hottes de sécurité biologique de classe I sont recommandées à tous les laboratoires qui n'ont pas les moyens ni matériels ni humains de contrôler systématiquement les filtres à air, l'étanchéité des hottes et la circulation des flux d'air. Ce type d'enceinte n'est pas conçu pour protéger le matériel des contaminations aéroportées (Fig. 2a).

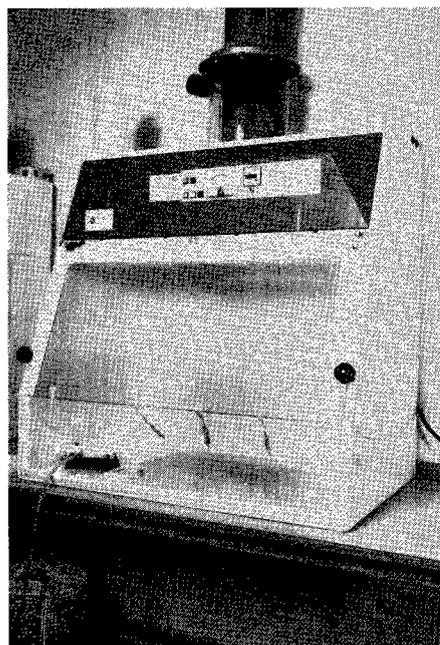
Fig. 2. Hottes de sécurité biologique.



a) Hotte de sécurité biologique classe I.



b) Hotte de sécurité biologique classe II.



c) Contrôle du flux d'air entrant
avec des bandelettes de papier.

Une hotte de sécurité biologique de classe II est une enceinte partiellement ouverte devant pour réaliser les manipulations et qui offre une protection à l'opérateur et à l'environnement au moyen d'un flux d'air formant barrière au niveau de l'ouverture (Fig. 2b). Cette hotte assure également la protection du produit et/ou des expériences grâce à un flux d'air filtré sur filtre HEPA dirigé vers le bas, uniforme et unidirectionnel (flux d'air laminaire). Ces hottes de sécurité biologique de classe II ont besoin d'être régulièrement testées et entretenues par des techniciens entraînés pour maintenir la barrière de protection, garantir que les caissons pressurisés où circule l'air sont en bon état et que les filtres à air sont efficaces. Ne pas utiliser ces hottes si une maintenance systématique et de qualité n'est pas possible. Plusieurs tests sont nécessaires pour s'assurer du bon confinement des hottes de sécurité biologique de classe II; un test sur la vitesse du flux d'air entrant n'est pas suffisant.

Pour vérifier grossièrement si une hotte de sécurité biologique de classe I assure la protection de l'opérateur, on peut utiliser une «fumée» chimique. Plonger un écouvillon de coton dans du tétrachlorure de titane qui au contact de l'air donne une «fumée» blanche, et le passer autour de l'ouverture de la hotte. Si la fumée se dirige vers l'intérieur, la hotte fonctionne correctement. Si elle s'éloigne plus ou moins rapidement vers l'extérieur, l'opérateur n'est pas protégé. On trouve dans le commerce des dispositifs en tube ou en bâtonnet permettant d'obtenir cette fumée chimique. On remarquera que le tétrachlorure de titane est toxique et qu'il faut s'en servir avec précaution. On peut aussi accrocher à l'avant de la hotte des bandelettes de papier (Fig. 2c) et observer si elles sont aspirées à l'intérieur de la hotte.

La hotte de sécurité biologique ne doit pas être placée n'importe où dans le laboratoire. Les courants d'air qui passent devant l'ouverture peuvent dévier le flux d'air protecteur et permettre à des germes de sortir de la hotte. Ces hottes ne doivent donc pas être placées près des portes ni des fenêtres, ni près des voies de passage à l'intérieur de la pièce. Elles ne doivent pas non plus se situer près des grilles d'arrivée ou de sortie de la ventilation mécanique.

Si l'on ne dispose pas d'une hotte de sécurité biologique et que la protection contre les aérosols est nécessaire, on pourra construire une cabine en pression négative. Outre les vêtements protecteurs habituels, les opérateurs à l'intérieur de cette cabine devront porter un masque pourvu d'un filtre HEPA et des lunettes de protection. Les centrifugeuses et les autres appareils qui donnent lieu à la formation d'aérosols peuvent être placés dans les hottes ou les isolateurs en pression négative pour obtenir la protection nécessaire.

On trouvera dans «*Guidelines for biological safety cabinets*» un document non publié de l'Organisation mondiale de la Santé (CDS/SMM/81.21), un complément d'information sur la réglementation et les tests sur les hottes de sécurité biologique; le document peut être obtenu sur demande, adressée à Division des Maladies transmissibles, Organisation mondiale de la Santé, 1211 Genève 27 (Suisse).