



# MANUEL DE SÉCURITÉ BIOLOGIQUE EN LABORATOIRE

Troisième édition

Depuis sa première édition publiée il y a plus de vingt ans en 1984, le *Manuel de sécurité biologique en laboratoire* est toujours le guide pratique auquel les laboratoires de tous niveaux se réfèrent en matière de sécurité biologique. Une bonne technique microbiologique et une utilisation judicieuse des équipements de sécurité par un personnel convenablement formé sont toujours des éléments fondamentaux de la sécurité biologique en laboratoire. Cela étant, la mondialisation, les progrès importants réalisés par la technologie, l'apparition de maladies nouvelles et les sérieuses menaces que représentent les agents ou les toxines microbiologiques détournés de leur usage normal et délibérément introduits dans l'environnement, appellent un réexamen des techniques actuellement utilisées dans les laboratoires. C'est pourquoi le manuel a été largement remanié et développé à l'occasion de cette nouvelle édition.

Le manuel aborde maintenant la question de l'évaluation du risque et les règles de sécurité à observer dans la mise en œuvre des technologies de recombinaison de l'ADN ; en outre, il propose un certain nombre de principes directeurs pour la mise en service des laboratoires et leur agrément. Les différents concepts de la sécurité biologique sont exposés, de même que la réglementation internationale la plus récente relative au transport des substances infectieuses. Diverses considérations de sécurité biologique applicables aux laboratoires des établissements de soins, qui figuraient dans d'autres publications de l'OMS, sont également reprises dans le manuel.

Le manuel devrait continuer à être, pour les pays, un encouragement à mettre en œuvre des programmes de sécurité biologique ainsi que des codes nationaux de bonnes pratiques pour la manipulation, dans de bonnes conditions de sécurité, de matériels biologiques potentiellement infectieux.

ISBN 92 4 254650 X



MANUEL DE SÉCURITÉ BIOLOGIQUE EN LABORATOIRE TROISIÈME ÉDITION OMS



Organisation mondiale de la Santé

# Sécurité d'emploi des appareils et instruments

L'utilisation de certains appareils et instruments peut comporter un risque microbiologique. D'autres, au contraire, sont spécialement conçus pour prévenir ou réduire les risques biologiques (voir chapitre 11).

## Appareils et instruments dont l'utilisation peut comporter un risque

Le tableau A4-1 donne la liste des appareils, instruments et manipulations qui comportent un risque et fournit des indications sur la manière d'éliminer ou de réduire ce risque.

*Tableau A4-1. Appareils, instruments et manipulations comportant des risques*

APPAREILS ET INSTRUMENTS	RISQUES	ELIMINATION OU RÉDUCTION DU RISQUE
Aiguilles hypodermiques	Inoculation accidentelle, aérosols, renversements	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ne pas recapuchonner ni casser les aiguilles.</li> <li>• Utiliser des aiguilles avec système de blocage pour éviter la séparation accidentelle de l'aiguille et de la seringue ou utiliser un système jetable dans lequel l'aiguille et la seringue sont indissociables.</li> <li>• Appliquer de bonnes techniques de laboratoire :             <ul style="list-style-type: none"> <li>— Remplir soigneusement la seringue pour réduire la formation de bulles et de mousse.</li> <li>— Éviter d'utiliser des seringues pour mélanger des liquides infectieux; si on ne peut faire autrement, veiller à ce que l'extrémité de l'aiguille soit sous la surface du liquide qui se trouve dans le récipient et éviter d'exercer trop de pression.</li> </ul> </li> </ul>

APPAREILS ET INSTRUMENTS	RISQUES	ELIMINATION OU RÉDUCTION DU RISQUE
		<ul style="list-style-type: none"> <li>— Avant de retirer une aiguille plantée dans un bouchon de caoutchouc fermant un flacon, envelopper l'aiguille et le bouchon dans un tampon de coton imprégné d'un désinfectant approprié.</li> <li>— Rejeter l'excès de liquide et les bulles d'air en tenant la seringue verticalement, dans un tampon de coton imprégné d'un désinfectant approprié ou dans un petit flacon contenant du coton.</li> <li>• Utiliser une enceinte de sécurité biologique pour toutes les manipulations sur du matériel biologique infectieux.</li> <li>• Placer les animaux dans un dispositif de contention pour les inoculer. Utiliser des aiguilles ou des canules mousses pour l'inoculation intranasale ou orale. Employer une enceinte de sécurité biologique.</li> <li>• Après usage, autoclaver et veiller à éliminer convenablement. Si on utilise un ensemble jetable aiguille-seringue, ne pas les désolidariser avant l'autoclavage.</li> </ul>
Centrifugeuses	Aérosols, projections et bris de tubes	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Utiliser des pots à centrifuger (de sécurité) ou des rotors scellés. N'ouvrir les pots ou les rotors qu'après les avoir laissé reposer pendant 30 min ou le faire dans une enceinte de sécurité biologique.</li> </ul>
Ultracentrifugeuses	Aérosols, projections et bris de tubes	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Monter un filtre HEPA entre la centrifugeuse et la pompe à vide.</li> <li>• Tenir un registre d'utilisation pour chacun des rotors et mettre en œuvre un programme de maintenance préventive pour réduire le risque de pannes mécaniques.</li> <li>• Remplir et vider les pots à centrifuger dans une enceinte de sécurité biologique.</li> </ul>
Jarres anaérobies	Explosion, dispersion de matériel infectieux	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Vérifier que le panier métallique qui renferme le catalyseur est en bon état.</li> </ul>

APPAREILS ET INSTRUMENTS	RISQUES	ELIMINATION OU RÉDUCTION DU RISQUE
Dessiccateurs	Implosion, dispersion de morceaux de verre et de matériel infectieux	<ul style="list-style-type: none"> <li>• A placer dans une cage métallique solide.</li> </ul>
Homogénéisateurs et broyeurs de tissus	Aérosols, fuites et casse	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Faire fonctionner et ouvrir dans une enceinte de sécurité biologique.</li> <li>• Utiliser des modèles spécialement conçus pour éviter les fuites au niveau des paliers des rotors et des joints circulaires ou utiliser un broyeur de type stomacher.</li> <li>• Attendre 30 min avant d'ouvrir le bol de l'homogénéiseur pour que l'aérosol ait le temps de se déposer. Réfrigérer pour condenser l'aérosol.</li> <li>• Si l'on utilise un broyeur manuel, tenir le tube dans un tampon de matériau absorbant.</li> </ul>
Sonificateurs, nettoyeurs à ultrasons	Aérosols, lésions de l'appareil auditif, dermite	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Faire fonctionner et ouvrir l'appareil dans une enceinte de sécurité biologique.</li> <li>• Isoler l'appareil pour le protéger des ultrasons.</li> <li>• Porter des gants pour protéger les mains contre les effets chimiques des détergents.</li> </ul>
Mélangeurs de cultures, agitateurs	Aérosols, projections et renversement de liquides	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Opérer dans une enceinte de sécurité biologique ou une enceinte de confinement primaire spécialement conçue.</li> <li>• Utiliser des flacons à culture solides munis d'un bouchon à vis et dont l'ouverture comporte un filtre solidement fixé, si nécessaire.</li> </ul>
Lyophilisateurs	Aérosols et contamination par contact direct	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Utiliser des raccords circulaires permettant de maintenir l'appareil hermétiquement fermé.</li> <li>• Utiliser des filtres à air pour protéger le circuit de vide.</li> <li>• Utiliser une méthode satisfaisante pour la décontamination; par voie chimique par exemple.</li> <li>• Prévoir un piège à humidité entièrement métallique et un condenseur de vapeur.</li> </ul>

APPAREILS ET INSTRUMENTS	RISQUES	ÉLIMINATION OU RÉDUCTION DU RISQUE
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Vérifier avec soin que les flacons de verre ne sont pas endommagés. N'employer que des flacons conçus spécialement pour utilisation sous vide.</li> </ul>
Bains-marie	Prolifération de micro-organismes. L'azoture de sodium forme des composés explosifs avec certains métaux.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Nettoyer et désinfecter régulièrement.</li> <li>• Ne pas utiliser d'azoture de sodium pour éviter la prolifération des germes.</li> </ul>

Outre les risques microbiologiques, il faut également prévoir et éviter ceux que comportent les appareils et équipements utilisés. Le tableau A4-2 ci-dessous énumère quelques causes courantes d'accidents.

**Tableau A4-2. Causes courantes d'accidents avec des appareils ou équipements**

ACCIDENT	CAUSE DE L'ACCIDENT	RÉDUCTION OU ÉLIMINATION DU RISQUE
<b>Défaut de conception ou de construction</b>		
Feu d'origine électrique dans un incubateur	Pas d'interrupteur de surcharge	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Respect des normes nationales.</li> </ul>
Electrocution	Pas de mise à la terre	
<b>Utilisation incorrecte</b>		
Accident de centrifugeuse	Défaut d'équilibrage des pots à centrifuger sur les rotors à oscillation libre	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Former et encadrer le personnel.</li> </ul>
Explosion d'un incubateur anaérobie		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Former et encadrer le personnel.</li> </ul>
<b>Équipement mal adapté</b>		
Explosion dans une fiole à vide à usage domestique	Mauvaises conditions de transport de l'azote liquide	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Utiliser du matériel spécialement conçu.</li> </ul>
Explosion dans un réfrigérateur à usage domestique	Produit chimique dangereux non placé dans un conteneur anti-étincelles et antidéflagrant, par exemple de l'éther éthylique dans un flacon dont le bouchon fuit	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ne ranger les solvants et les extraits à bas point d'éclair que dans des enceintes anti-étincelles et antidéflagrants.</li> </ul>
<b>Maintenance défectueuse</b>		
Feu dans un photomètre à flamme	Mauvais remontage des pièces du photomètre pendant la maintenance	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Former et encadrer le personnel.</li> </ul>