

TUBERCULOSE TRAVAILLER EN SÉCURITÉ

la sécurité en laboratoire

Le manuel Édition globale

Une publication de l'initiative mondiale
pour les laboratoires, un groupe de travail
du Partenariat Halte à la tuberculose



Publié par

Secrétariat du groupe de travail GLI
Programme mondial de lutte contre la tuberculose
Organisation mondiale de la santé
Genève, Suisse
<http://www.stoptb.org/wg/gli/>

Tous droits réservés. Aucune partie de ce manuel ne peut être reproduite ou transmise sous quelque forme ou par quelque moyen que ce soit sans l'autorisation écrite de l'éditeur.

Les auteurs font valoir leurs droits moraux sur l'œuvre.

ISBN : 978-0-6486845-1-0 (PDF)
ISBN : 978-0-6486845-0-3 (Print)

Production

Éditeur du projet
Mark Fitz-Gerald

Rédacteurs techniques
Richard Lumb (consultant de laboratoire indépendant)
Ivan Bastian et Lisa Shephard (SA Pathology)
Lice Gonzalez Angulo et Chris Gilpin (OMS)

Rédacteurs du manuscrit
Mark Fitz-Gerald, Richard Lumb

Illustrations
Kerry Reid

Design
Sue Dyer Design

Contact

gli_secretariat@who.int
© 2019 Global Laboratory Initiative

TUBERCULOSE TRAVAILLER EN SÉCURITÉ

la sécurité en laboratoire

Richard Lumb
Lisa Shephard
Ivan Bastian
Mark Fitz-Gerald

Le manuel
Édition globale

	PAGE
Remerciements	3
Avant-propos	4
Introduction	5
Abréviations	6
Glossaire	7
Symboles et mises en garde	8

Chapitres

1 Les pratiques de sécurité	11
2 Infrastructure et aménagement des laboratoires	17
3 Équipement de protection individuelle	41
4 Utilisation d'une enceinte de sécurité biologique	59
5 Génération d'aérosols et prévention	77
6 Causes de contamination et prévention	85
7 Récipients et réactifs	103
8 Utiliser le matériel en toute sécurité	111
9 Gestion des déchets de laboratoire	131
10 Gestion des déversements infectieux	141

Annexes

1 Récipients pour échantillons	154
2 Prélèvement d'expectoration	156
3 Suivi des échantillons	157
4 Les désinfectants et leur utilisation	162
5 Le lavage des mains	166
6 Références	167

REMERCIEMENTS

Ce manuel de sécurité en laboratoire a été conçu comme produit de collaboration du groupe central de l'Initiative mondiale pour les laboratoires (GLI). Le GLI est un groupe de travail du Partenariat Halte à la tuberculose. Ce manuel a été rédigé par Richard Lumb (consultant de laboratoire indépendant), Ivan Bastian et Lisa Shephard (Adelaide-Supranational Reference Laboratory (SRL)), et Mark Fitz-Gerald (SA Pathology).

L'équipe de rédaction souhaite remercier, pour leur implication critique et précieuse dans la révision des projets de documents, les anciens membres et les membres actuels du groupe central du GLI et du secrétariat du GLI de l'OMS : Maka Akhalaia, Heidi Albert, Heather Alexander, Uladzimir Antonenka, Martina Casenghi, Petra de Haas, Kathleen England, Lucilaine Ferrazoli, Marguerite Massinga Loembe, Alaine Umubyeyi Nyaruhirira, Daniel Orozco, Kaiser Shen, Thomas Shinnick, Alena Skrahina, Khairunisa Suleiman, Sabira Tahseen, Elisa Tagliani, Abiola Olajumoke Tubi et Hung Van Nguyen. Lucilaine Ferrazoli, et Marguerite Massinga Loembe ont revu la version finale du document, au nom du groupe central GLI.

L'équipe tient à exprimer sa reconnaissance envers les illustratrices Kerry Reid et Sue Dyer Design pour leur soutien, leur contribution de longue date au matériel pédagogique élaboré dans le cadre du diagnostic de la TB en laboratoire et surtout pour leur enthousiasme et leur engagement à l'égard du manuel de sécurité en laboratoire.

L'équipe remercie en particulier Lice González-Angulo, Alexei Korobitsyn et Chris Gilpin (siège de l'Organisation mondiale de la santé (OMS)), Heidi Albert (FIND), Heather Alexander (US Centers for Disease Control and Prevention) et Cornelia Hennig (retraîtée ; auparavant au bureau régional de l'OMS pour le Pacifique occidental) pour leur soutien enthousiaste à l'élaboration de ce manuel.

L'élaboration et la publication de ce document ont été rendues possibles grâce au soutien financier de :

La United States Agency for International Development (USAID).

Le Australian Respiratory Council (ARC), en collaboration avec le Dr Ral Antic (président) et le comité exécutif de l'Union de la région Asie-Pacifique.

- Aux membres du Conseil, et en particulier à Mme Amanda Christensen (directrice exécutive)

Département de recherche en médecine thoracique au sein du Royal Adelaide Hospital.

- Au professeur Paul Reynolds, chef du département de médecine thoracique au sein du Royal Adelaide Hospital, et au Dr Richard Stapledon (médecin consultant)

Le contenu du manuel de sécurité en laboratoire relève de la responsabilité des auteurs et ne reflète pas nécessairement les visions de l'USAID, de l'ARC ou du département de médecine thoracique du Royal Adelaide Hospital.

On estime qu'environ 1,7 milliard de personnes (23 %) dans le monde sont atteintes d'une infection tuberculeuse latente et risquent donc de développer une TB active au cours de leur vie. La TB est l'une des dix principales causes de décès et la première cause de décès due à un seul agent infectieux. Dans le monde, quelque 10 millions de personnes ont développé une TB active en 2017 dans tous les pays et concernant toutes les tranches d'âge.

La TB pharmacorésistante continue de constituer une crise de santé publique. En 2017, on estime que 3,5 % des nouveaux cas et 18 % des cas précédemment traités étaient atteints de tuberculose multirésistante (TB-MR) ou de tuberculose résistante à la rifampicine (TB-RR). L'OMS a estimé qu'il y a eu 558 000 nouveaux cas de TB-RR. Parmi les cas de TB-RR, on estime que 82 % d'entre eux étaient atteints de TB-MR.

Le déploiement international de nouveaux outils de diagnostic moléculaire (tests d'hybridation inverse sur bandelettes et GeneXpert) permet désormais d'identifier rapidement les personnes atteintes de TB active et, parallèlement, la résistance à la rifampicine, un indicateur clé de TB-MR. La culture et les tests de pharmacosensibilité (TDS) sont nécessaires, en particulier pour les patients qui risquent d'être atteints de TB pharmacorésistante, et pour surveiller leur réponse au traitement.

Bien que la culture et les TDS soient de plus en plus accessibles, l'infrastructure de laboratoire nécessaire pour leur réalisation est plus complexe et nécessite un équipement plus spécialisé et plus coûteux. Un niveau élevé de compétence technique est essentiel pour garantir que le personnel de laboratoire effectue le travail correctement et en toute sécurité.

La réalité à laquelle ces laboratoires sont maintenant confrontés est qu'une part croissante de leur charge de travail provient de patients atteints de TB-MR/RR. Il est plus important que jamais de travailler en toute sécurité pour protéger l'individu, ses collègues et la communauté au sens large.

Malheureusement, dans de nombreux laboratoires, la formation aux pratiques de sécurité au travail n'est pas optimale.

Le manuel de sécurité en laboratoire est un guide pratique destiné au personnel de laboratoire ; il s'appuie sur des décennies d'expérience de culture et de TDS dans les laboratoires et fait référence aux documents sur les meilleures pratiques publiés par l'OMS, l'initiative mondiale pour les laboratoires et l'Union. Le manuel utilise un texte simple et des illustrations claires pour aider le personnel de laboratoire à comprendre les questions de sécurité importantes liées à la réalisation des cultures des TDS.

Le manuel de sécurité en laboratoire TB doit être utilisé avec le *Manuel de sécurité biologique pour les laboratoires de la tuberculose*.

L'objectif de ce manuel est d'enseigner au personnel réalisant des cultures et/ou des tests de sensibilité aux médicaments comment travailler en toute sécurité afin de réduire le risque d'infection ou de blessure pour lui-même, ses collègues et la communauté.

Principes généraux

La biosécurité comporte trois éléments clés, qui sont tous nécessaires pour manipuler les bacilles tuberculeux en toute sécurité :

1 Premièrement

Des pratiques de travail sûres pour minimiser la création d'aérosols infectieux et prévenir les déversements. Un équipement « adapté à l'usage », correctement utilisé et entretenu.

2 Deuxièmement

Infrastructure et aménagement pour soutenir les activités principales.

3 Troisièmement

Bâtiments destinés à abriter le laboratoire et ses activités.

Travailler en toute sécurité

Un équipement de protection individuelle (EPI), un équipement adapté à l'usage et la gestion des déchets infectieux soutiennent tous une bonne technique d'asepsie mais ne la remplacent pas.

Ces éléments aident à contenir la formation d'aérosols, mais ne peuvent pas empêcher la formation d'aérosols en cas de pratiques de travail dangereuses.

Aérosols et contamination croisée

Une bonne technique d'asepsie pour minimiser la formation d'aérosols est votre meilleure protection.

Le principal risque d'infection par le bacille tuberculeux en laboratoire est associé à l'inhalation d'aérosols générés par les procédés de laboratoire. La minimisation de leur production est sans doute le moyen le plus efficace de rester en sécurité. Tous les aérosols doivent être considérés comme potentiellement infectieux.

Moins de 20 % des infections acquises en laboratoire peuvent être attribuées à un accident reconnu. Les autres n'ont pas de cause identifiable, mais la formation d'aérosols est la plus probable.

Les aérosols, une fois déposés sur une surface, ne se réaérosolisent pas. Cependant, ils peuvent contaminer des échantillons ou des cultures, des consommables, des réactifs, des équipements ou des EPI, créant ainsi un risque de contamination croisée.

Protéger le patient

Les résultats de laboratoire auront un impact profond sur le patient. En minimisant la formation d'aérosols et la contamination croisée, on réduit le risque que le patient reçoive un faux-positif.

Un diagnostic erroné de TB ou de TB pharmacorésistante peut être catastrophique pour le patient et sa famille.

ABRÉVIATIONS

Abréviation

ACH Changements d'air par heure	NRL Numéro de registre du laboratoire
ADN Acide désoxyribose nucléique	OMS Organisation mondiale de la santé
ASI Alimentation sans interruption	p/p Poids pour poids
BAAR Bacille acido-alcoolo-résistant	PBS Solution saline tamponnée au phosphate
CMTB Complexe <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	PMDT Gestion programmatique de la tuberculose résistante
EPI Équipement de protection individuelle	RIF (R) Rifampicine
ESB Enceinte de sécurité biologique	RPM Rotations par minute
FCR Force centrifuge relative (équivalente à xg)	SRL Laboratoire supranational de référence pour la TB
GLI Global Laboratory Initiative (initiative mondiale pour les laboratoires)	TB Tuberculose
HEPA (Filtre) à air à haute efficacité	TB-MR Tuberculose multirésistante
INH (H) Isoniazide	TB-RR La TB résistante à la rifampicine
LNRT Laboratoire national de référence pour la TB	TB-UR Tuberculose ultra-résistante
LPA Hybridation inverse sur bandelette (test moléculaire diagnostique)	TDS Test de pharmacosensibilité
MGIT960 Système de culture liquide semi-automatisé	Test Xpert MTB/RIF Test moléculaire diagnostique
µm Micromètre	TT Temps de traitement
µl Microlitre	USAID United States Agency for International Development (Agence des États-Unis pour le développement international)
ml Millilitre	UV Ultraviolets
MNT Mycobactérie non tuberculeuse	v/v Volume pour volume
MPT64 Test rapide pour l'identification pour l'identification de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	VRR Valeur du risque relatif
MTB <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	

Terme	Définition
Aérosol (infectieux)	Une suspension de particules (d'un agent infectieux) qui peut être inhalée et causer une infection
Antichambre	Voir sas
Charge bacillaire	Le nombre de bacilles tuberculeux/unité de volume dans le solide ou le liquide manipulé
Contamination croisée	Un événement imprévu qui transfère du matériel à partir d'un échantillon, d'une culture ou d'un réactif vers un autre échantillon, une autre culture ou un autre réactif
Flacons McCartney	Récipient réutilisable en verre transparent (≈ volume de 30 ml) avec couvercle à visser en métal ou en plastique avec insert en caoutchouc ; utilisé pour les milieux solides
Masque respiratoire	Un masque de type FFP2 ou N95
« Propre »	Une zone ou un élément moins susceptible de contenir, ou d'être contaminé par le bacille tuberculeux ou d'autres agents infectieux
Personnel	Les personnes, indépendamment de leurs qualifications ou de leur sexe, qui effectuent des travaux de culture/TDS dans le cadre de la TB
Procédures générant aérosols	Procédures qui augmentent le risque d'aérosols en raison de la des force mécanique de la procédure
Responsable de laboratoire	Ce poste comporte la responsabilité ultime du fonctionnement, des opérations et des performances de l'ensemble du laboratoire
Risque	Une combinaison de la probabilité et des conséquences d'un incident lié à un ou plusieurs dangers spécifiques
Risque élevé	Risque de générer des aérosols infectieux lors de la manipulation des cultures ; forte concentration de particules infectieuses
Risque faible	Risque de générer des aérosols infectieux lors de la manipulation des cultures ; faible concentration de particules infectieuses
Risque modéré	Risque de générer des aérosols infectieux lors de la manipulation des cultures ; faible concentration de particules infectieuses
« Sale »	Une zone ou un élément plus susceptible de contenir ou d'être contaminé par le bacille tuberculeux ou d'autres agents infectieux
Sas	Une petite pièce séparant une zone de laboratoire d'un couloir ou d'un autre espace (équivalent d'une antichambre)
Suivi des échantillons	Un processus de laboratoire utilisé pour s'assurer que les bons résultats correspondent au bon patient
Superviseur	Le titulaire de ce poste est responsable du fonctionnement quotidien, de l'exploitation et des performances d'une ou de plusieurs sections d'un laboratoire de TB
Vestibule	Zone extérieure du laboratoire qui est adjacente à l'entrée de l'antichambre. Il peut, ou non, relier l'espace public à l'antichambre

SYMBOLES ET MISES EN GARDE



Avertissement

Le non-respect de ces instructions peut nuire à votre santé ou causer des dommages immédiats aux équipements



Avertissement

Le non-respect de ces instructions peut affecter les résultats des tests ou endommager l'équipement au fil du temps



Correct

La meilleure façon de faire quelque chose



À ne pas faire



Porter une blouse de laboratoire pour cette procédure



Porter des gants pour cette procédure



Des chaussures fermées doivent être portées à tout moment dans le laboratoire



Porter des lunettes pour cette procédure



Se laver les mains



Cette substance est corrosive



Cette substance est inflammable



Cette substance est toxique

CHAPITRES

	PAGE
1 Des pratiques de travail sûres	11
2 Infrastructure et aménagement des laboratoires	17
3 Équipement de protection individuelle	41
4 Utilisation d'une enceinte de sécurité biologique	59
5 Génération d'aérosols et prévention	77
6 Causes de contamination et prévention	85
7 Récipients et réactifs	103
8 Utiliser le matériel en toute sécurité	111
9 Gestion des déchets de laboratoire	131
10 Gestion des déversements infectieux	141

1

DES PRATIQUES DE TRAVAIL SÛRES

Les laboratoires présentent de nombreux dangers pour le personnel, et tous ne sont pas immédiatement évidents. Les pratiques de travail sûres sont conçues pour

- Réduire le risque d'infection ou de blessure pour soi-même, ses collègues et la communauté
- Protéger le patient contre des résultats erronés

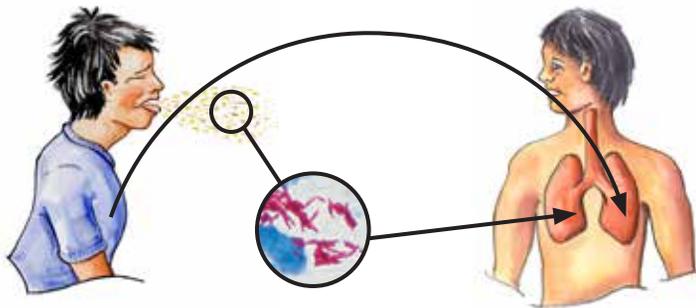
Moins de 20 % des infections acquises en laboratoire peuvent être attribuées à un accident reconnu. Les autres n'ont pas de cause identifiable, mais la génération d'aérosols est la plus probable.

Ce chapitre présente les concepts et les définitions qui seront utilisés tout au long du manuel.

	PAGE
Comment se produit l'infection	12
Les piliers de la biosécurité	13
Définitions	13
Risque d'infection par la tuberculose et activité professionnelle	15
Résumé	16

Comment se produit l'infection

La TB est une maladie infectieuse. La transmission se produit lorsque de petits aérosols contenant des bacilles acido-alcoolo-résistants (BAAR) se retrouvent en suspension dans l'air et sont inhalés. Lorsqu'une personne tousse, éternue, chante ou expire vigoureusement, elle produit des aérosols qui pourraient être infectieux si elle est atteinte de TB pulmonaire.

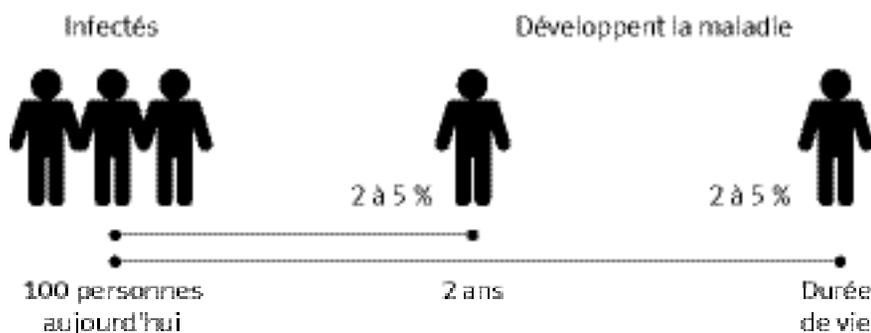


Tuberculose (TB)

Histoire naturelle de la TB

Si 100 personnes en bonne santé étaient infectées par la tuberculose aujourd'hui, l'évolution naturelle de la maladie pourrait se faire de deux manières

- 2 à 5 % des personnes atteintes développeraient la TB dans les 2 ans
- 2 à 5 % des personnes atteintes développeraient la TB au cours de leur vie



Les personnes immunodéprimées présentent un risque beaucoup plus élevé de progression de l'infection à la maladie. Les facteurs de risque comprennent, sans s'y limiter, l'infection concomitante par le VIH, le diabète, la chimiothérapie, la malnutrition, le tabagisme et les maladies chroniques.

Un employé de laboratoire immunodéprimé court un risque accru de voir l'infection tuberculeuse évoluer vers la maladie. Un certificat médical doit être obtenu avant de travailler dans un laboratoire de TB réalisant des cultures/TDS.

Il suffit d'une dizaine de BAAR pour établir l'infection. Le fait de travailler avec un grand nombre de BAAR et d'utiliser des procédures générant des aérosols augmente considérablement le risque de TB.

Les piliers de la biosécurité

La biosécurité comporte trois éléments clés, qui sont tous nécessaires pour manipuler les bacilles tuberculeux en toute sécurité :

1 Premièrement

Des pratiques de travail sûres pour minimiser les déversements et la formation d'aérosols infectieux
Un équipement « adapté à l'usage », correctement utilisé et entretenu

2 Deuxièmement

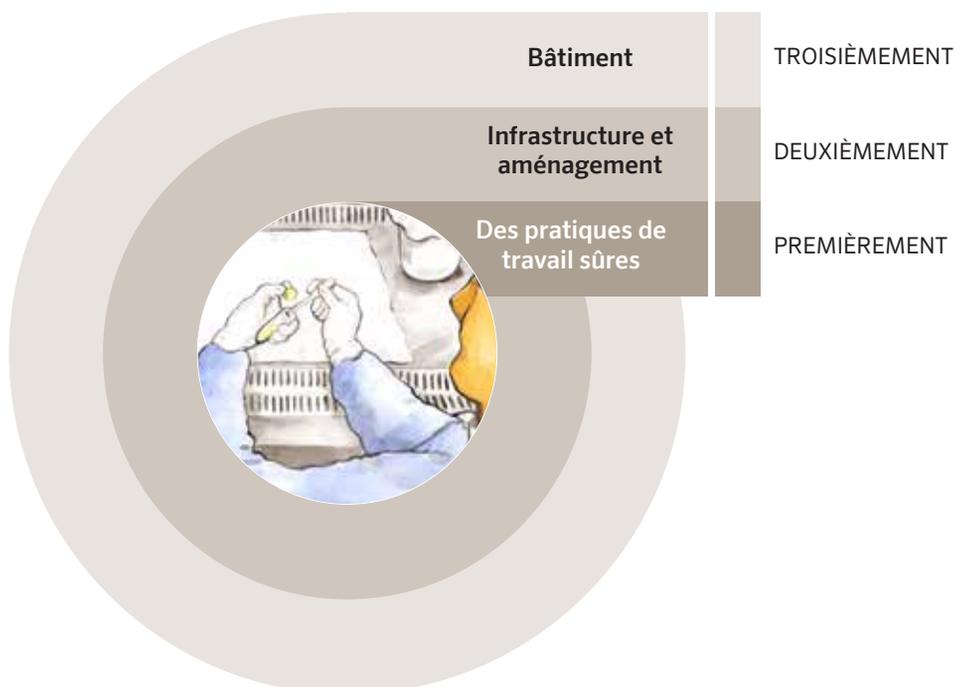
Infrastructure et aménagement pour soutenir les activités principales

3 Troisièmement

Bâtiments destinés à abriter le laboratoire et ses activités

La combinaison de ces trois éléments est nécessaire pour manipuler les bacilles tuberculeux en toute sécurité.

Toutefois, il est essentiel d'adopter des pratiques de travail sûres.



Définitions

Aérosol

Gouttelettes aéroportées contenant des agents infectieux en mesure

- D'être inhalés et d'établir l'infection
- De contaminer des consommables, des réactifs et des équipements

Noyaux de gouttelettes

- Résidus secs d'aérosols <5 µm de diamètre
- Capables de flotter dans l'air pendant une période prolongée
- Assez petit et léger pour atteindre la profondeur des poumons

Activités génératrices d'aérosols

- Activités qui augmentent le risque de production d'aérosols en raison de la force mécanique
- Les aérosols sont produits plus facilement à partir de fluides moins visqueux
 - Les expectorations sont généralement visqueuses et génèrent plus difficilement des aérosols
 - Les cultures liquides sont fluides et génèrent donc plus facilement des aérosols
- Les exemples comprennent le vortexage, l'agitation, la centrifugation, le mélange ou le pipetage

Charge bacillaire

La charge bacillaire est le nombre de BAAR dans un échantillon ou une culture, généralement classée comme variable, faible, moyenne ou élevée.

De très petits volumes de cultures positives peuvent contenir un très grand nombre de BAAR.

Contamination croisée

Tout événement imprévu qui transfère des BAAR d'un élément à l'autre.

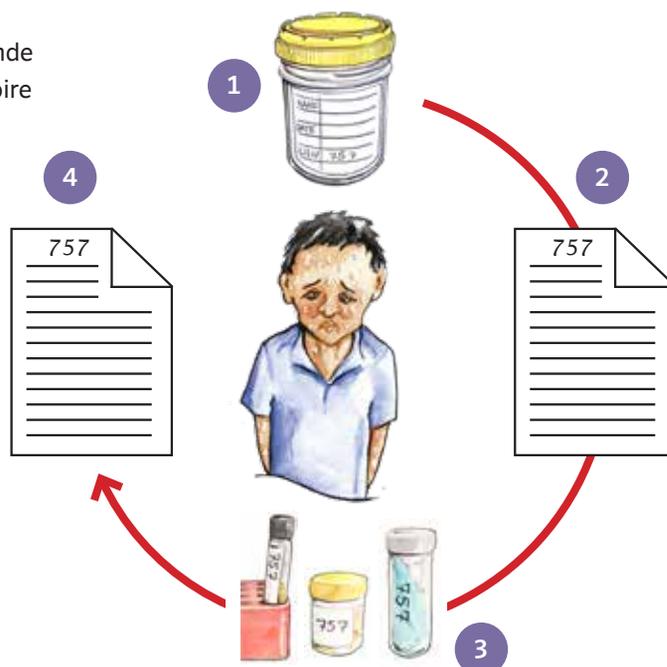
Par exemple

- Un BAAR d'un échantillon ou d'une culture est transféré dans un réactif
- Les aérosols d'un échantillon ou d'une culture fortement positive sont transférés à un autre
- Un BAAR présent sur des gants contaminés est transféré à un téléphone portable

Suivi des échantillons

Un processus utilisé pour s'assurer que les résultats fournis par le laboratoire correspondent au bon patient. Le suivi des échantillons permet de protéger les patients contre les résultats faussés.

- 1 Échantillons
- 2 Formulaire de demande
- 3 Procédés de laboratoire
- 4 Résultats



Le suivi des échantillons est nécessaire à chaque étape, du prélèvement des échantillons à la communication des résultats

Risque de TB et activité professionnelle

Une étude rétrospective réalisée en Corée du Sud a fourni des preuves objectives établissant un lien entre l'activité professionnelle et le risque de développer une TB. Le personnel administratif sans contact direct avec le laboratoire a été comparé au personnel de laboratoire effectuant de la microscopie, des cultures, des cultures/TDS et des TDS.

Le personnel administratif présentait une valeur du risque relatif (VRR) similaire à celle observée en population générale, qui est de 1,0. En raison du nombre relativement faible d'employés par activité, les intervalles de confiance sont nécessairement grands.

Activité	Valeur du risque relatif	Intervalle de confiance à 95 %
Administration	1,0	
Microscopie uniquement	1,4	0,2 - 10,0
Culture uniquement	2,0	0,2 - 13,3
Combinaison de culture et de TDS*	7,8	1,7 - 34,9
TDS uniquement	21,5	4,5 - 102,5

* Dans la plupart des laboratoires, le personnel chargé de la mise en culture effectue également des TSD. Les laboratoires dans lesquels du personnel ne s'occupe que de la culture ou que des TDS sont ceux dont la charge de travail est très importante.

Les principales conclusions sont les suivantes

- L'examen microscopique des expectorations est une activité à faible risque ; il n'est pas nécessaire d'utiliser des ESB dans les laboratoires qui pratiquent uniquement l'examen microscopique des frottis
- Le traitement des échantillons TB pour la mise en culture n'augmente que marginalement la VRR
- La manipulation de cultures positives pour le TDS était associée à la VRR la plus élevée

Ni GeneXpert ni l'hybridation inverse sur bandelettes (LPA) n'étaient disponibles au moment de l'étude. Le *Manuel de sécurité biologique pour les laboratoires de la tuberculose* donne des indications sur les risques relatifs liés à ces activités.

Activité	Valeur du risque relatif	Cible
GeneXpert	$\leq 1,4$	Équivalente à l'examen microscopique des frottis d'expectoration. Le tampon de lyse réduit la viabilité des BAAR de 10^6 en 15 minutes.
LPA (sur échantillons)	$\leq 2,0$	Équivalente à la culture. Traitement des échantillons identique à celui de la culture. L'étape d'extraction de l'ADN inactive les BAAR.
LPA (sur culture)	$\leq 21,5$	Peut être aussi élevée que pour les TSD. Nécessite la manipulation d'une culture positive. L'étape d'extraction de l'ADN inactive les BAAR.

Résumé

Le principal risque d'infection par le bacille tuberculeux en laboratoire est associé à l'inhalation d'aérosols générés par les procédés de laboratoire. La minimisation de leur production est le moyen le plus efficace de rester en sécurité.

2

INFRASTRUCTURE ET AMÉNAGEMENT DES LABORATOIRES

L'infrastructure et l'aménagement des laboratoires constituent le deuxième pilier de la biosécurité.

Les objectifs de ce chapitre sont les suivants :

- Définir le risque par activité de laboratoire
- Expliquer comment la conception des laboratoires peut minimiser les risques grâce à
 - des contrôles techniques ;
 - la localisation des activités dans une zone de laboratoire ;
 - l'emplacement des équipements.
- Introduire des sujets de discussion entre les utilisateurs du laboratoire, les architectes, les ingénieurs et les responsables de la conception et de la construction.

	PAGE
Activité et risques	18
Infrastructure - principes directeurs	19
Structure	21
Sujets d'ingénierie et d'architecture	29
Modélisation à l'échelle	30
Entretien des infrastructures	31
Aménagement des laboratoires	32
Triangulation	35
Résumé	40

Au cours de la dernière décennie, l'élaboration des directives en matière de biosécurité a connu une évolution qui permet d'aligner le risque et l'activité.

Auparavant, un organisme était classé dans un groupe à risque en fonction de sa virulence, de sa transmissibilité et de la disponibilité des traitements. Le niveau de confinement d'un groupe à risque ne tient pas compte des procédures réellement effectuées ni de leurs risques inhérents.

Le *Manuel de sécurité biologique pour les laboratoires de la tuberculose* de l'OMS (2012) intègre une approche d'évaluation des risques qui prend en compte les procédures effectuées.

Un aménagement de laboratoire sûr et efficace complète l'infrastructure en séparant les activités à faible risque (« propres ») des activités à risque élevé (« sales ») et en optimisant les mouvements à l'intérieur du laboratoire.

Activité et risque

Les activités des laboratoires de TB sont évaluées en fonction du risque de production d'aérosols et de la charge bacillaire. Pour de plus amples informations sur la réalisation des évaluations des risques, consulter le *Manuel de sécurité biologique pour les laboratoires de la tuberculose* de l'OMS.

Niveau de risque	Activités de laboratoire	Évaluation des risques
Faible risque	Examen microscopique direct des expectorations ; préparation des échantillons pour le test Xpert MTB/RIF	Faible risque de générer des aérosols infectieux lors de la manipulation des cultures ; forte concentration de particules infectieuses
Risque modéré	Traitement et concentration des échantillons pour l'inoculation sur les milieux de culture primaires ; test moléculaire direct par hybridation inverse sur bandelette sur les expectorations traitées	Risque modéré de générer des aérosols infectieux lors de la manipulation des cultures ; faible concentration de particules infectieuses
Risque élevé	Manipulation des cultures pour l'identification, TDS phénotypique ou test d'hybridation inverse sur bandelette sur des cultures	Risque élevé de générer des aérosols infectieux lors de la manipulation des cultures ; forte concentration de particules infectieuses

Infrastructure – principes directeurs

La culture et les TDS nécessitent un espace et des équipements de laboratoire dédiés. Ils ne doivent pas être utilisés pour d'autres services de diagnostic de routine.

Dans les laboratoires où seules des activités à faible risque sont réalisées (microscopie, GeneXpert), l'équipement peut être partagé.

Activités « propres » contre activités « sales »

Les termes « propre » et « sale » sont des termes relatifs au sein d'un laboratoire de TB réalisant des cultures ou des TDS. Tous les équipements, les surfaces, ainsi que les consommables et les réactifs sont potentiellement contaminés.

- « Propre » (à faible risque) signifie que la zone ou l'objet est moins susceptible de contenir ou d'être contaminé par des BAAR ou d'autres agents infectieux
- « Sale » (à risque élevé) signifie qu'il est plus probable qu'il contienne ou soit contaminé par des BAAR ou d'autres agents infectieux

Niveau de risque et zones du laboratoire

La zone d'entrée doit être réservée aux activités « propres ». Les activités « sales » doivent être les plus éloignées de l'entrée.

Les activités à faible risque comprennent

- Administration, station de lavage des mains, microscopie, GeneXpert, stockage des consommables et des réactifs, coloration

Les activités à risque modéré comprennent

- Mise en culture et inoculation des milieux

Les activités à risque élevé comprennent

- Manipulation de cultures positives, identification de MTB, TDS, préparation d'extraits d'ADN à partir de cultures positives

Mouvement de l'air

Le flux d'air directionnel permet de réduire les risques. Il est créé à l'aide d'un gradient de pression négatif. L'air doit se déplacer en partant de l'entrée, où se déroulent les activités à faible risque, vers la sortie du laboratoire où se déroulent les activités à risque plus élevé.

Le système de ventilation doit également être capable d'échanger le volume d'air dans un laboratoire 6 à 12 fois par heure. Le *Manuel de sécurité biologique pour les laboratoires de la tuberculose* de l'OMS fournit des conseils sur la détermination du nombre changements d'air par heure dans un laboratoire qui utilise une ventilation mécanique.

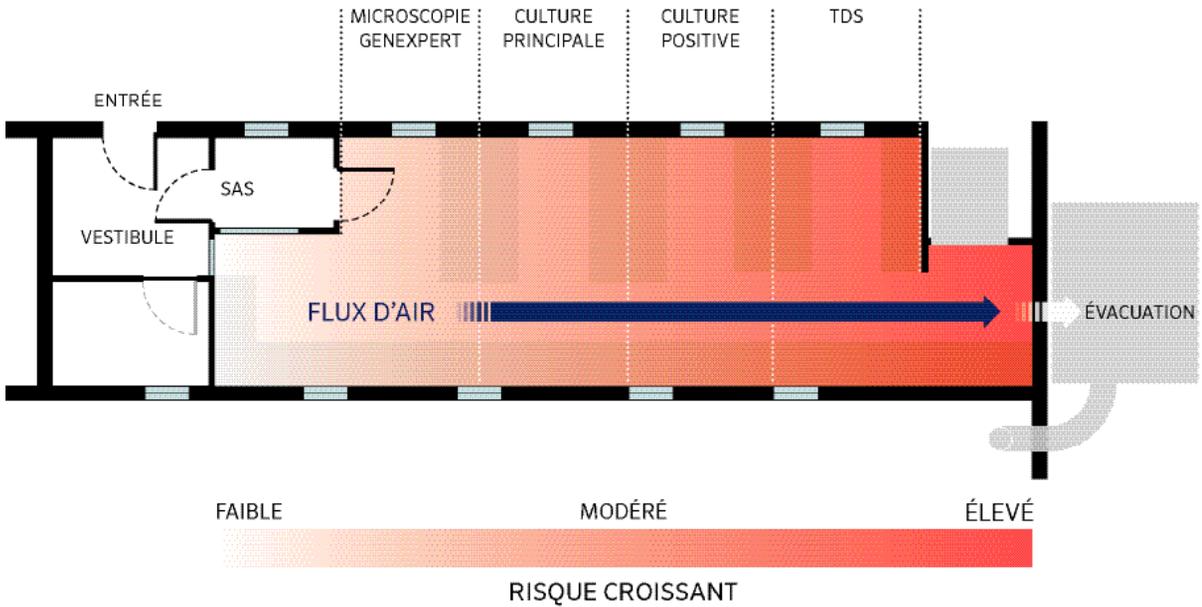
Laboratoires multipièces

Pour les laboratoires disposant de pièces séparées par activités spécifiques, les mêmes principes s'appliquent. Le point d'entrée présente le niveau de risque le plus faible.

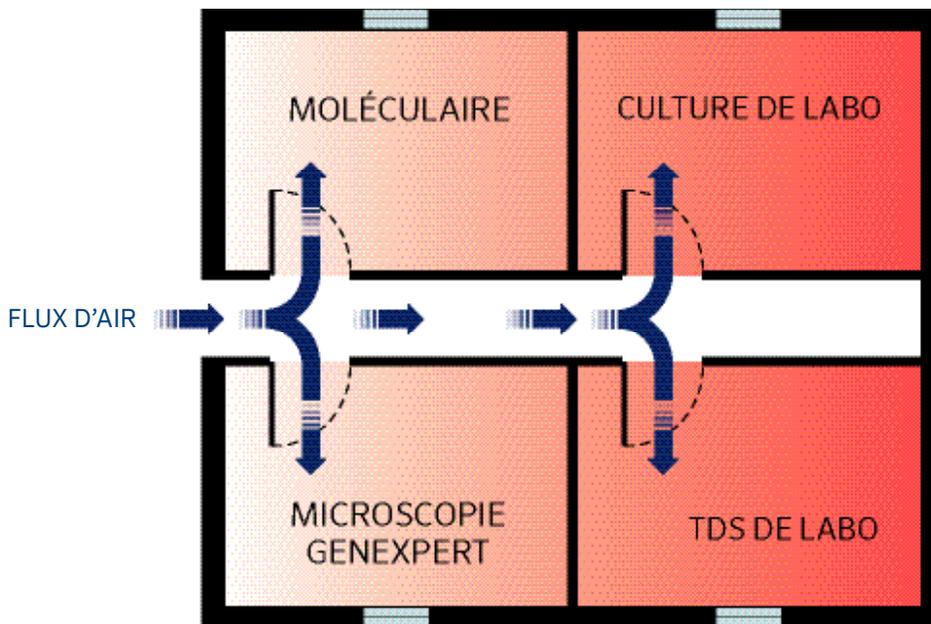
Ce dernier augmente à mesure que l'on s'avance dans la pièce. Dans un laboratoire multipièce, l'air circule à partir des zones « propres » vers les zones « sales » de chaque pièce.

Laboratoire à une seule pièce

L'air circule à partir des zones « propres » vers les zones « sales »

**Laboratoire multi pièces**

L'air circule à partir des zones « propres » vers les zones « sales » de chaque pièce.



Remarque : par souci de simplicité, les sas des laboratoires de culture et de TDS n'ont pas été représentés.

Structure

La structure du laboratoire, la façon dont nous assignons les espaces fonctionnels et leur relation les uns avec les autres, a un impact fondamental sur le déroulement du travail et la sécurité.

Pour les laboratoires de TB réalisant uniquement des cultures, certaines exigences structurelles sont facultatives. Cependant, le rôle d'un laboratoire TB spécialisé dans la culture est en train de changer, passant d'un rôle de diagnostic à un rôle de surveillance des patients atteints de TB pharmacorésistante. Les laboratoires doivent anticiper une proportion croissante d'échantillons provenant de patients atteints de TB-MR/UR. En conséquence, ces options sont fortement recommandées pour les laboratoires réalisant uniquement des cultures.

Vestibule

Cette zone est le premier point d'entrée dans le laboratoire.

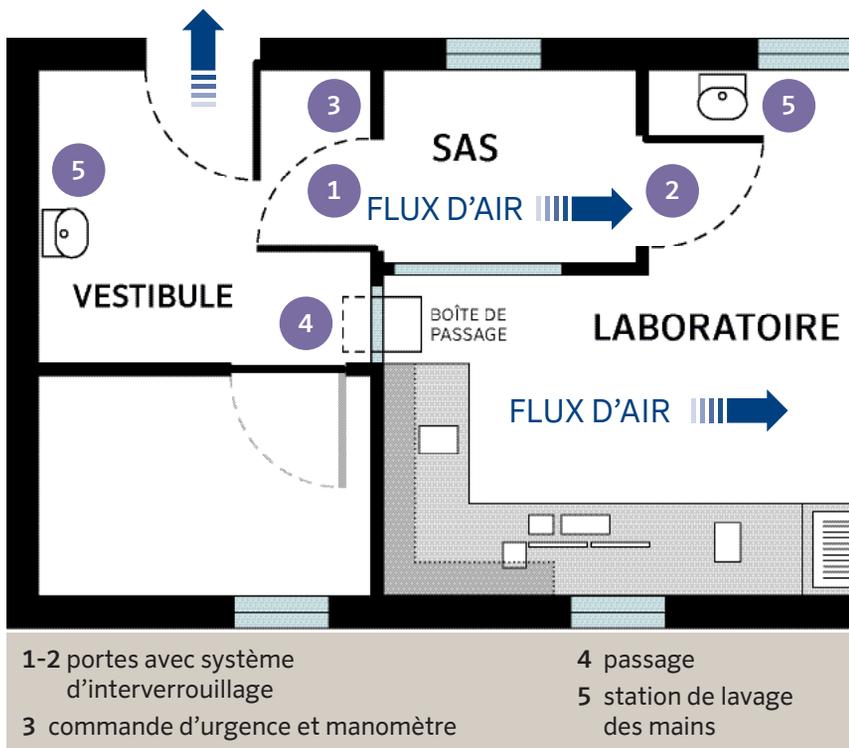
Considérations clés

- Peut relier l'espace public au sas
- Pression positive de l'air par rapport au sas
- Peut inclure une station de lavage des mains

Considérations supplémentaires

- Un espace pour stocker de plus grandes quantités de consommables, de réactifs et d'EPI
- Les toilettes et les douches peuvent être adjacentes au vestibule
- Accès aux services du bâtiment

Vestibule, sas et zones adjacentes



Sas

Les sas sont fortement recommandés pour les laboratoires de TB réalisant uniquement des cultures et obligatoires pour les laboratoires réalisant des cultures et des TDS.

Les sas ne doivent pas être utilisés pour le lavage des mains et le stockage des équipements de protection individuelle, des consommables et des réactifs ou des équipements.

Des équipements de sécurité tels que des extincteurs et un kit de lutte contre les déversements peuvent être stockés dans le sas.

Considérations clés

- Fournit une barrière physique entre le vestibule et le laboratoire
- Pression négative par rapport au vestibule mais pression positive par rapport au laboratoire
- Doit être suffisamment grand pour accueillir et manœuvrer les plus grands équipements utilisés dans le laboratoire de TB
- Les portes des sas doivent avoir des fenêtres permettant de voir le laboratoire
- Manomètres pour sas/laboratoire/vestibule
- Système de sécurité pour l'accès
- Interverrouillage des portes : une seule porte peut être ouverte à la fois et bouton d'urgence pour neutraliser l'interverrouillage
- Revêtement de sol sans joints avec bordure

Considérations supplémentaires

- Peut être fumigé indépendamment de la zone principale du laboratoire
- Les portes extérieures/intérieures doivent être alignées



LES SAS SONT OBLIGATOIRES POUR LES LABORATOIRES DE TB EFFECTUANT DES TDS



- 1 Système d'interverrouillage
- 2 Fenêtre en verre pour la visibilité
- 3 Entrée sécurisée
- 4 Manomètre
- 5 Neutralisation de l'interverrouillage d'urgence
- 6 Revêtement de sol sans joints avec bordure

Laboratoire – Culture de bacille tuberculeux

Les laboratoires réalisant des cultures surveillent un nombre croissant de patients atteints de TB pharmacorésistante. En conséquence, les risques au sein du laboratoire ont augmenté et doivent être réévalués. L'infrastructure des laboratoires réalisant des cultures pourrait devoir s'aligner sur les exigences des laboratoires pratiquant des TDS.

Envisager d'inclure

- un sas ;
- une boîte de passage ;
- un stérilisateur à vapeur sous pression.

La conception des laboratoires comporte trois parties : (i) l'architecture, (ii) l'ingénierie et (iii) l'aménagement.

Architecture

Les sols, les murs et les joints structurels doivent être lisses, faciles à nettoyer, non poreux aux liquides et résistants aux produits chimiques et aux désinfectants utilisés dans le laboratoire.

- Les sols sont antidérapants et épousent la forme des murs
- Les joints structurels doivent être réduits au minimum
- Les matériaux appropriés comprennent, entre autres, les panneaux en vinyle et la peinture époxy

Les paillasse doivent être suffisamment solides pour supporter les équipements, lisses, faciles à nettoyer, non poreuses aux liquides et résistantes aux produits chimiques et aux désinfectants utilisés dans le laboratoire.

- Cadre de support solide.
- Les matériaux les mieux adaptés pour les paillasse comprennent
 - Matériaux à base de résine
 - Fibre de verre/époxy
 - Noyau en bois scellé et recouvert d'un revêtement stratifié non poreux
- Les surfaces en bois peintes ne sont pas recommandées
- La hauteur des paillasse doit varier en fonction de l'activité professionnelle
 - Paillasse de travail général ≈ 900mm
 - Administration, microscopie ≈ 720mm
- Les zones sous les paillasse sont accessibles pour faciliter le nettoyage
 - Le stockage sous les paillasse doit être réduit au minimum



Bord des paillasse
arrondis pour réduire
les blessures



**NE PAS UTILISER DE BOIS NON SCELLÉ
(BOIS MASSIF, CONTREPLAQUÉ, PANNEAUX DE PARTICULES,
FIBREBOARD DE DENSITÉ MOYENNE)**

Ingénierie

Les laboratoires ont besoin d'un approvisionnement stable, fiable et adéquat en électricité et en eau (installations). La conception d'un nouveau laboratoire ou la rénovation d'un laboratoire existant avec des équipements supplémentaires ajoutera une charge sur les installations existantes, en particulier concernant l'électricité. Agrandir des installations dans un laboratoire est souvent coûteux. Pour travailler avec les fournisseurs concernés, il faut planifier bien avant la construction.

L'approvisionnement en électricité est-il stable et suffisant pour les besoins actuels et futurs ?

- Nécessite une protection contre les surtensions pour protéger les circuits et équipements électriques
- Les systèmes de ventilation et les équipements supplémentaires peuvent accroître considérablement les besoins en électricité
- Inclure les besoins énergétiques d'urgence pour maintenir les systèmes de ventilation (flux d'air directionnel, climatisation), l'éclairage, les principaux équipements (ESB, GeneXpert, réfrigérateurs) en cas de panne d'électricité
 - L'alimentation électrique de secours du laboratoire est-elle un système dédié ou fait-elle partie de l'installation ?
 - Le carburant disponible est-il suffisant pour faire fonctionner le système électrique de secours ?

- Les principaux équipements sont-ils équipés d'un système d'ASI en cas de panne de courant de courte durée ? (p. ex. ESB, GeneXpert)

Approvisionnement en eau suffisant pour répondre aux besoins actuels et futurs

- Éviers et stations de lavage des mains au sein du laboratoire
- Toilettes et douches dans le vestibule
- Approvisionnement d'urgence en eau via un réservoir (5 000 litres) et une pompe

Une combinaison d'éclairage naturel et artificiel est recommandée. En particulier, des fenêtres donnant sur des couloirs ou d'autres espaces du laboratoire sont nécessaires pour la sécurité des travailleurs dans le laboratoire. Les fenêtres doivent être fermées hermétiquement et ne doivent pas pouvoir s'ouvrir.

Le gaz n'est pas nécessaire dans le laboratoire.

Aménagement



- | | |
|---|--|
| 1 Distributeur de savon | 5 Affiche « Comment bien se laver les mains » |
| 2 Lavage des mains de secours (par exemple, gel hydroalcoolique pour les mains) | 6 Crochets pour tenir les blouses utilisées dans le laboratoire ; près de la station de lavage des mains |
| 3 Robinet à commande non manuelle | 7 Poubelle |
| 4 Distributeur de serviettes en papier | |

Remarque : Une station de lavage oculaire n'est pas présentée en raison de la grande variété d'options disponibles.

Une station de lavage des mains doit être située à l'entrée du laboratoire

- Robinet à commande non manuelle
- Distributeur de savon
- Possibilité de lavage des mains secondaire comme solution de secours
- Distributeur de serviettes en papier
- Affiche sur le lavage des mains (optionnelle)
- Poubelle
- Station de lavage oculaire - cela peut être aussi simple qu'une poche de solution saline stérile ou une tuyauterie dédiée, avec une sortie à pression réglable
- Crochets pour tenir les blouses utilisées dans le laboratoire, à proximité de la station de lavage des mains

Éviers dédiés aux activités de laboratoire

- Fabriqué à partir d'un matériau résistant aux taches, aux solvants et aux produits chimiques
- Ne pas utiliser des éviers en céramique

Le mobilier de laboratoire doit être solide, fabriqué à partir de matériaux non perméables pouvant être facilement décontaminés

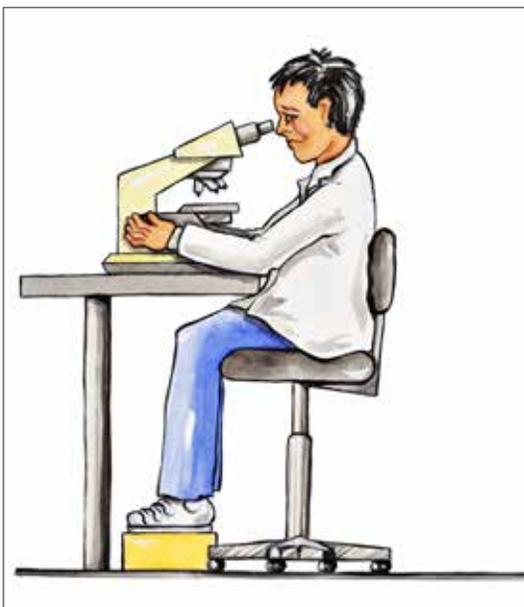
- Chaises de laboratoire
 - Hauteur réglable
 - Les roulettes doivent se bloquer lorsque le poids est appliqué sur le siège
 - Une base à 5 pieds est préférable pour accroître la stabilité

Zone pour les petites quantités d'acides, de solvants et de colorants

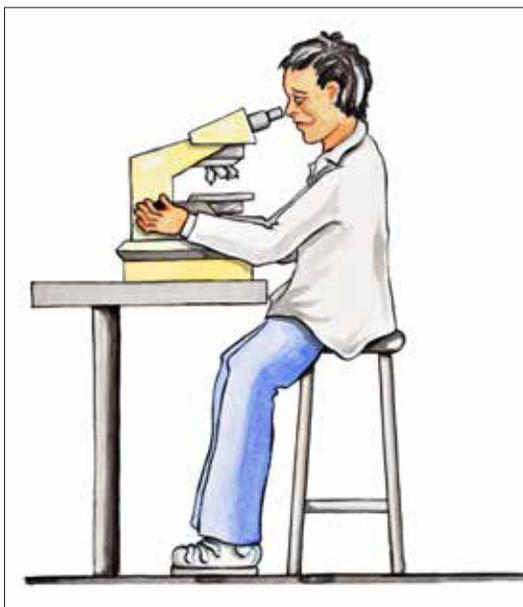
- Préparation des colorants et des réactifs effectuée en dehors du laboratoire

Zone de stockage au sein du laboratoire

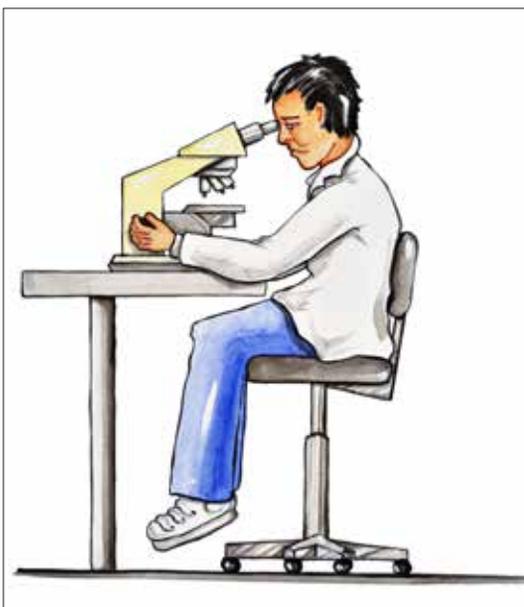
- Armoire ou étagère séparée des paillasses de travail
- Dans la zone « propre » du laboratoire
- Capacité de stockage d'EPI pour au moins une semaine de travail plus les consommables et les réactifs
- Zone de stockage à l'extérieur du laboratoire
 - Une zone sécurisée pour prévenir les vols
 - Vestibule ou zone proche
 - Stockage à long terme de grandes quantités d'EPI, de consommables et de réactifs
 - Petite quantité d'éléments moins fréquemment utilisés



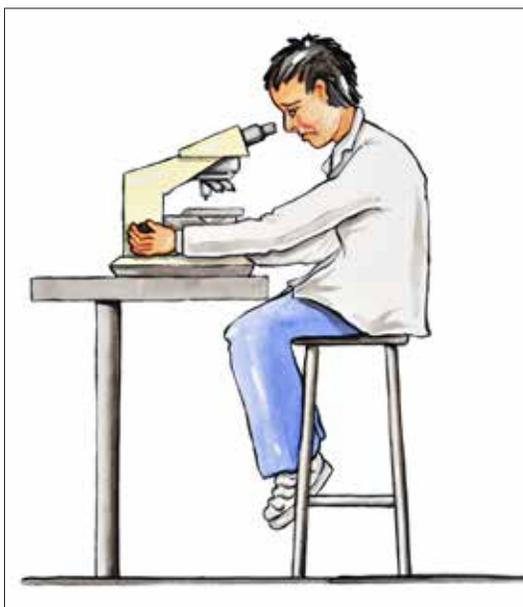
Bonne posture
Soutenir vos pieds permet
de redresser votre dos



Bonne posture
Lever le microscope pour aider
à redresser son dos et à garder
les pieds à plat sur le sol



Mauvaise posture
Pieds non soutenus



Mauvaise posture
Siège trop haut ou paillasse
trop basse, pieds qui ne sont
pas à plat

Laboratoire - Culture/TDS

Une infrastructure supplémentaire est obligatoire pour un laboratoire effectuant des TDS.

Espace de laboratoire

- Sas avec un système d'interverrouillage permettant de s'assurer qu'une seule porte du sas peut être ouverte à tout moment
 - Commande d'urgence requise pour les deux portes
- Système de sécurité par clavier à code ou carte-clé pour l'accès
- Boîte de passage pour les échantillons et autres objets
- Deux systèmes de communication indépendants
 - Téléphone
 - Système d'interphone bidirectionnel
- Stérilisateur autoclave situé à l'extrémité « sale » du laboratoire
 - Il convient d'utiliser un stérilisateur autoclave autonome
Les stérilisateurs autoclaves à passage direct ne sont pas recommandés en raison de leur coût et de leur complexité
 - Flux d'air directionnel tel qu'une hotte d'évacuation pour éliminer la vapeur et la chaleur
- Système d'alarme pour indiquer que la pression négative dans le laboratoire est hors limites
 - Une pression trop élevée ou trop basse constitue un risque pour la santé et il faut mettre en place des systèmes permettant d'arrêter le système de ventilation



Une boîte de passage est un sas pour les petits objets



Une hotte située au-dessus d'un stérilisateur à vapeur sous pression

Sujets d'ingénierie et d'architecture

L'expertise du personnel et des experts qualifiés des laboratoires de TB doit être prise en compte dans le cahier des charges. Les exigences de conception et la taille finale du laboratoire dépendront de nombreux facteurs.

Charge de travail

- Types de tests actuellement effectués (microscopie, GeneXpert, LPA, culture, TDS, autre)
- Estimation de la charge de travail future
- Mise en œuvre de tests supplémentaires, exigences en matière d'espace ?

Effectifs

- Effectifs actuels
- Le nombre estimé de tests effectués par technicien au cours d'une journée de travail de 8 heures figure dans le tableau ci-dessous

Services de support

- Un système d'information de laboratoire sera-t-il installé pendant la construction ou dans les dix prochaines années ?

Estimation de la charge de travail maximale par procédure de test pouvant être effectuée par un technicien compétent

Procédure de test	Nombre maximum de tests/technicien ¹			
	Jour	Semaine	Mois	Année ²
Microscopie optique pour la détection des BAAR	25	125	500	5 750
Microscopie à fluorescence pour la détection des BAAR	50	250	1 000	11 500
Mise en culture (liquide/solide) des échantillons	40	200	800	9 200
TDS (liquide)	20	100	400	4 600
TDS (solide)	20	100	400	4 600
Xpert (4 modules)	16	80	320	3 680
LPA – hybridation inverse (manuel)	24	120	480	5 520

1 Le nombre maximum est indicatif* et dépend

- des ressources humaines, de l'expérience et de l'expertise du personnel ;
- de l'infrastructure et de l'aménagement des laboratoires ;
- de l'équipement ;
- de la fiabilité des installations telles que l'électricité et l'eau.

* Référence : Global Laboratory Initiative.
GLI Practical Guide to TB Laboratory Strengthening.
<http://stoptb.org/wg/gli/gat.asp>.

2 L'année est basée sur 230 jours ouvrables

- Besoins en équipement par test
 - Quantité d'équipement (ESB, incubateurs, MGIT960, centrifugeuses) déterminée par la charge de travail, le type d'essai, les milieux liquides et/ou solides et le personnel
 - Restrictions sur l'emplacement des équipements, en particulier les ESB, en raison des portes, des mouvements de personnes, des flux d'air (voir le chapitre Utilisation de l'ESB)

- Corrélation entre équipement et charge de travail (voir la disposition du laboratoire)

- Électricité

- Charges provenant de :
 - l'équipement ;
 - la lumière ;
 - la ventilation ;
 - la climatisation.

- Emplacement des équipements et des charges électriques requises par zone

- Nombre et emplacement des prises de courant générales

- Prises de courant de secours en cas de panne de courant

- Eau

- Fourniture pour :
 - les stations de lavage des mains ;
 - les éviers ;
 - les toilettes et les douches (si elles font partie de l'installation du laboratoire).

Modélisation à l'échelle

Un plan à échelle réduite avec des équipements et des paillasses offre un moyen simple et efficace d'explorer les options structurelles, le flux de travail du laboratoire et l'emplacement des équipements.

Mesure (mm)	Mise à l'échelle	Dimension à l'échelle (mm)
1 000	1:100	10
1 000	1:50	20

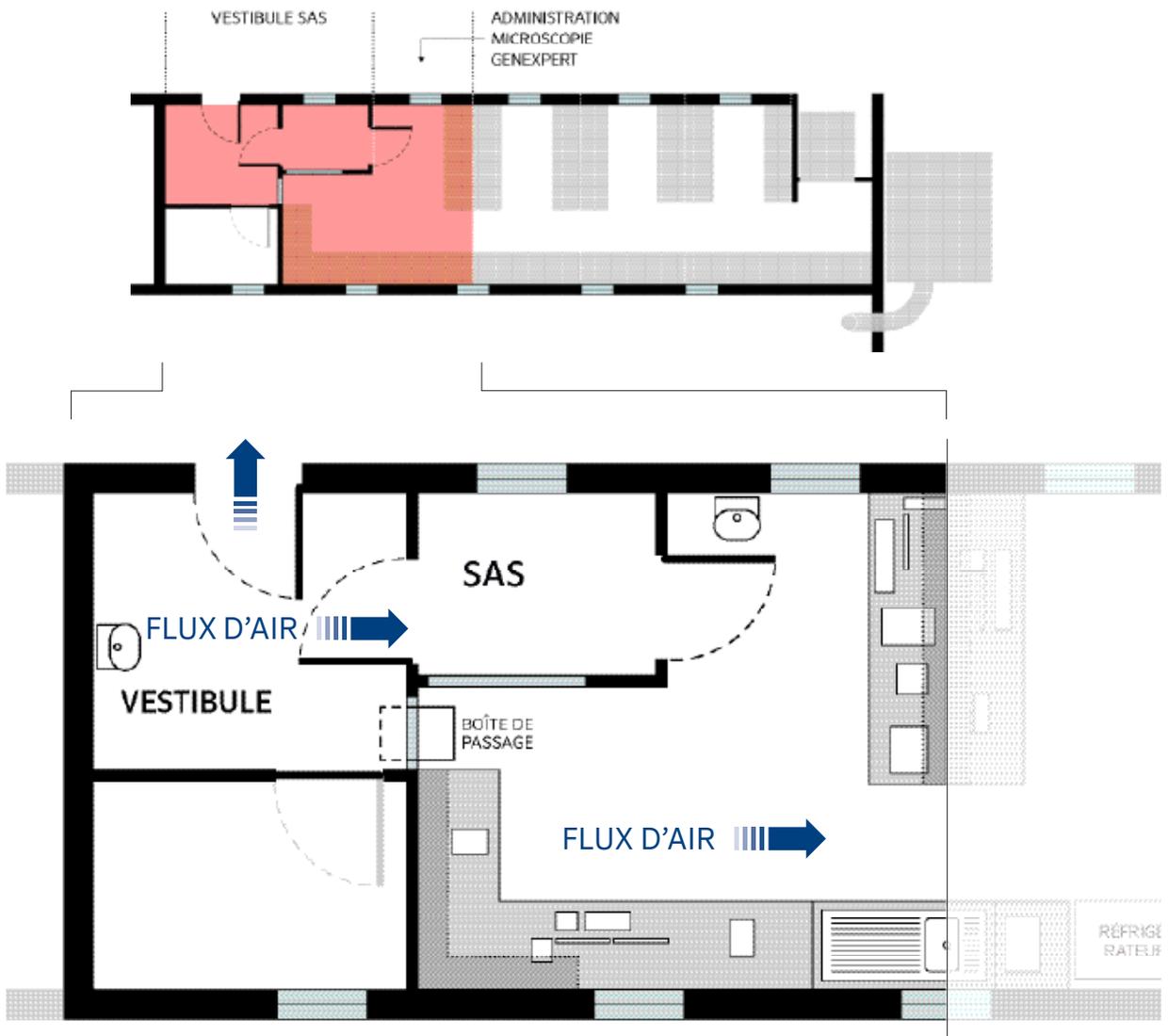
Entretien des infrastructures

Imaginez que vous achetez une voiture neuve et que vous n'entretenez jamais votre véhicule et que vous ne fassiez aucune réparation pendant toute sa durée de vie. L'entretien et les réparations sont toujours nécessaires pour maintenir de bonnes performances.

Dans de nombreux pays, l'entretien des infrastructures est souvent ignoré. Un financement annuel doit être disponible pour l'entretien des infrastructures afin de garantir que le laboratoire fonctionne conformément aux spécifications. Les priorités en matière d'entretien sont indiquées dans le tableau ci-dessous.

Poste	Action	Échéance
Livraison du laboratoire après achèvement	Confirmation que la structure répond aux spécifications et est « adaptée à l'usage » Le laboratoire doit être opérationnel La procédure d'approbation doit impliquer des représentants du ministère concerné, les donateurs et les partenaires	Fin de la mise en service
Première année de fonctionnement	Tout défaut ou panne/ réparation sous garantie	Pendant les 12 mois suivant la date de mise en service
Système de ventilation	Entretien du système, y compris les performances HEPA	Annuel
Électricité	Vérification du système de toutes les prises de courant	Tous les deux ans
Panne	Toute panne qui arrête le travail	Sur demande Temps de réponse <24h
ESB	Entretien	Lors de l'installation et avant utilisation, chaque année, si l'ESB est déplacée ou si un filtre est remplacé
Tous les autres équipements	Entretien	Annuel ou selon les instructions du fabricant

Aménagement du laboratoire - Zone à faible risque



Il ne doit y avoir qu'une seule porte d'entrée dans le laboratoire. La station de lavage des mains ou la station de lavage oculaire doivent être situées à proximité immédiate de la porte.

Les autres éléments comprennent

Administration
Paillasse, registres de
laboratoire, ordinateur,
imprimante/scanner/fax,
téléphone

Microscope(s)

Zone de stockage des
consommables et des réactifs
prêts à l'emploi

Boîte de passage

GeneXpert

Crochets pour blouses

Réfrigérateur (consommables
et réactifs uniquement)

Dans un contexte de risque
biologique, la préparation des
réactifs de travail et la zone
de coloration sont « propres ». Cependant, les deux activités
nécessitent une zone humide
et doivent être plus éloignées
de l'entrée.

Aménagement du laboratoire - Zone à risque modéré



Les activités génèrent une faible concentration de particules infectieuses. Un équipement spécifique est nécessaire et tout traitement des échantillons doit être effectué au sein d'une ESB.

L'équipement comprend

ESB

Centrifugeuse

MGIT960

Incubateur

Déchets infectieux

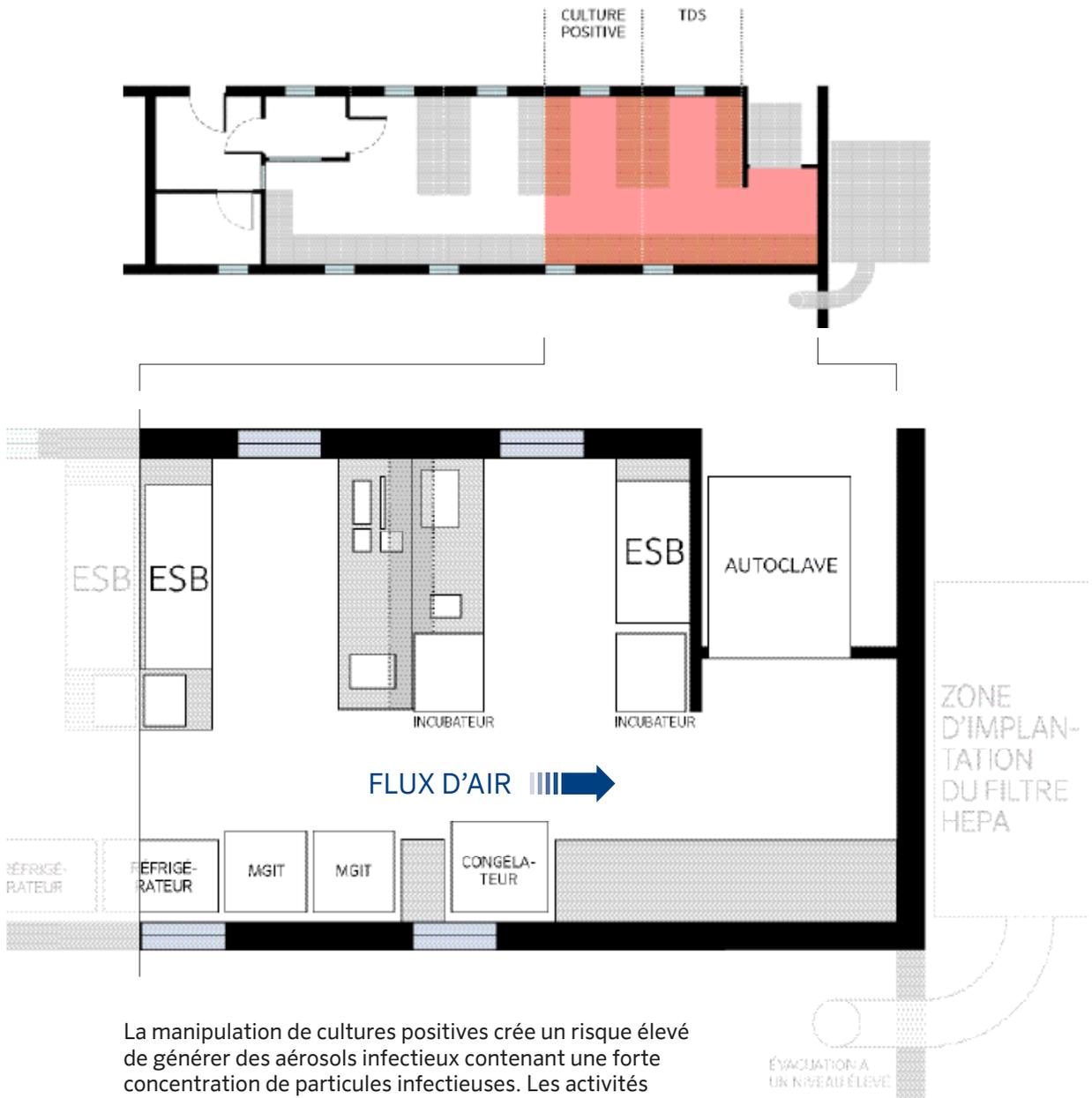
Réfrigérateur pour matières
non infectieuses

Réfrigérateur pour matières
infectieuses

Vortex (au sein de l'ESB)

Accès à un autoclave

Aménagement du laboratoire - Zone à risque élevé



La manipulation de cultures positives crée un risque élevé de générer des aérosols infectieux contenant une forte concentration de particules infectieuses. Les activités comprennent la préparation de frottis à partir de cultures positives, l'identification, les TDS et la préparation des cultures pour la LPA. Toutes les activités doivent être effectuées au sein d'une ESB en utilisant des pratiques de travail sûres.

L'équipement comprend

ESB

MGIT960

Incubateur

Réfrigérateur pour matières
non infectieuses

Réfrigérateur pour matières
infectieuses

Congélateur ultra-froid

Autoclave

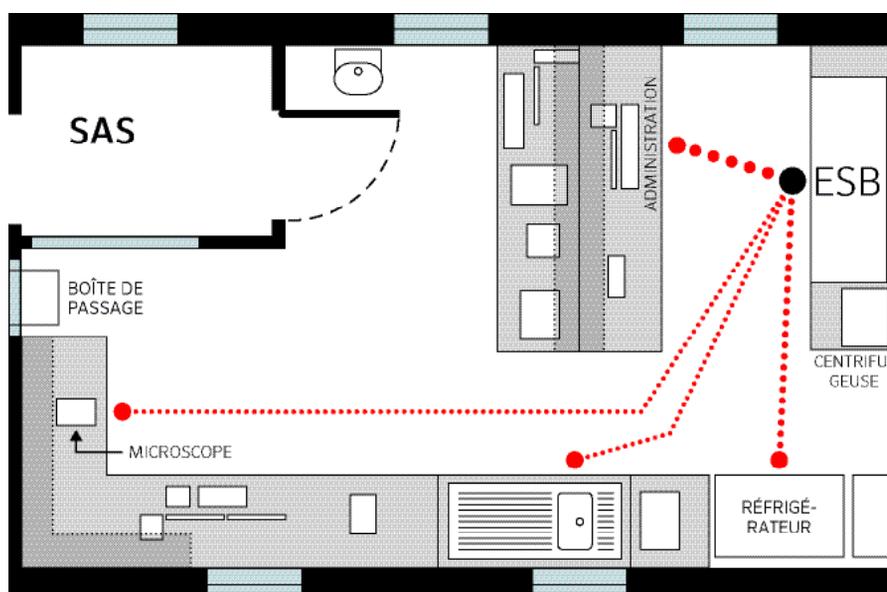
Triangulation

Pour optimiser la zone de travail, placer les éléments clés de l'équipement ensemble selon une « forme triangulaire » autour du poste de travail où une activité est effectuée.

Résoudre ces questions dans le cadre de la planification de l'emplacement des équipements

- Quelle est l'activité spécifique qui sera réalisée ?
- Quel est l'équipement nécessaire à la réalisation de l'activité ?
- À quelle fréquence l'équipement est-il utilisé lors de la réalisation de l'activité ?

Triangulation pour la microscopie



Microscopie

Cette activité comprend

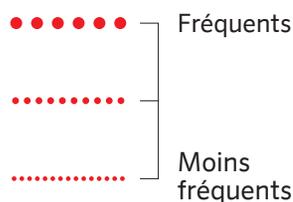
Administration
(enregistrement, consignation et rapport)

Préparation des frottis
(paillasse ouverte ou dans une ESB)

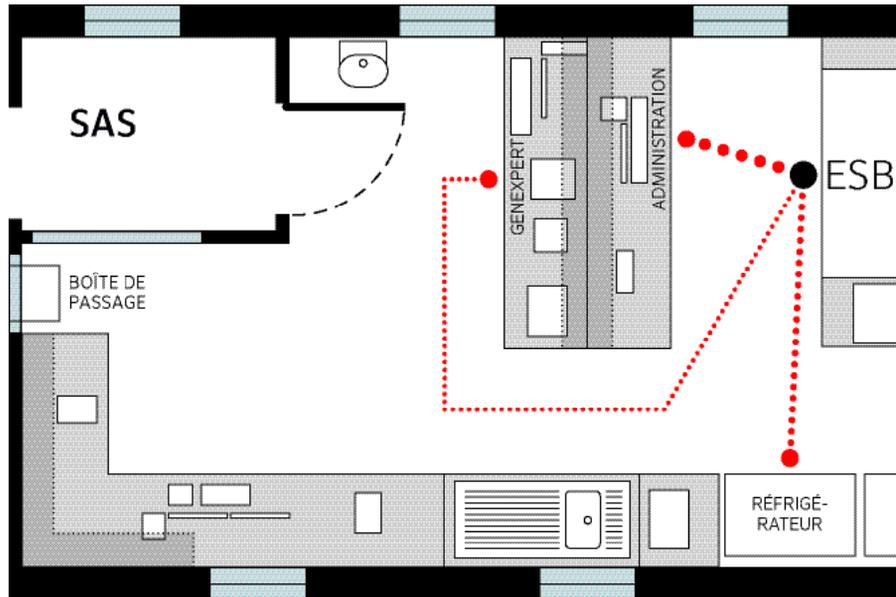
Coloration
(évier avec égouttoir, alimentation en eau)

Microscopie
(microscope et paillasse)

Fréquence des déplacements



Triangulation pour GeneXpert

**GeneXpert**

Comprend

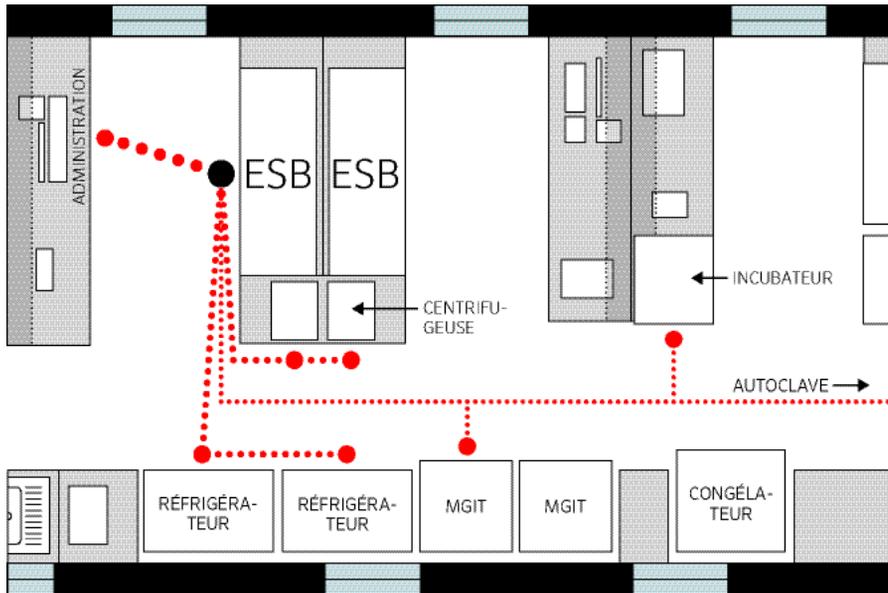
Administration
(enregistrement, consignation et rapport)Préparation des échantillons
(paillasse ouverte ou dans une ESB)Chargement/déchargement du système
GeneXpert**Fréquence des déplacements**

● ● ● ● ● — Fréquents

● ● ● ● ● — Moins fréquents

● ● ● ● ● — Moins fréquents

Triangulation pour le traitement des échantillons en vue de la culture



Traitement des échantillons pour la culture

Comprend

Administration
(étiquetage, consignation et rapport)

Centrifugation

Décontamination d'échantillons

Inoculation des milieux

Gestion des déchets infectieux

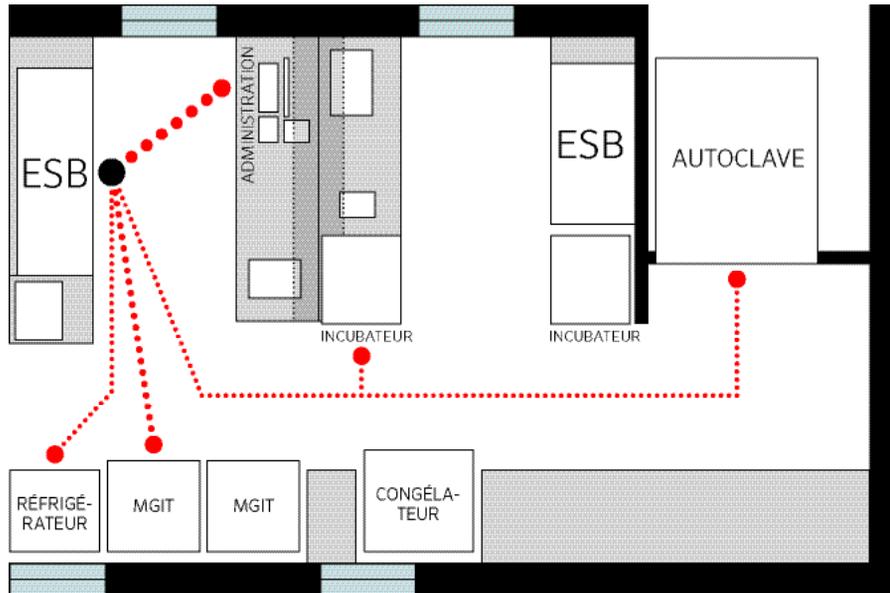
Fréquence des déplacements

●●●●●●● Fréquents

..... Moins fréquents

Comme la plupart du temps est consacré à l'utilisation d'une ESB, celle-ci doit être au centre, les autres équipements étant placés autour d'elle pour le déroulement des autres activités.

Triangulation pour les cultures positives

**Cultures positives**

Comprend

Administration

(étiquetage, consignation et rapport)

Préparation des frottis

Effectuer un test rapide (MPT64, LPA)

Inoculation des milieux

Gestion des déchets infectieux

Fréquence des déplacements

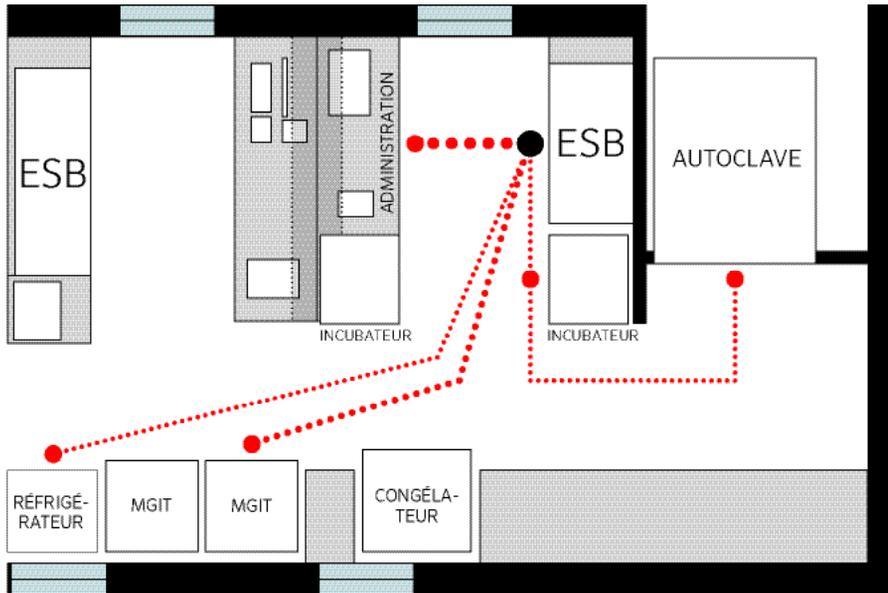
● ● ● ● ● — Fréquents

● ● ● ● ● — Moins fréquents

● ● ● ● ● — Moins fréquents

Comme la plupart du temps est consacré à l'utilisation d'une ESB, celle-ci doit être au centre, les autres équipements étant placés autour d'elle pour le déroulement des autres activités.

Triangulation pour les TDS



Test de pharmacosensibilité

Comprend

Administration

(étiquetage, consignation et rapport)

Ajout d'une solution médicamenteuse à un milieu (liquide)

Inoculation des milieux

Préparation de l'inoculum

Gestion des déchets infectieux

Fréquence des déplacements

●●●●● Fréquents

●●●●● Moins fréquents

●●●●● Moins fréquents

Comme la plupart du temps est consacré à l'utilisation d'une ESB, celle-ci doit être au centre, les autres équipements étant placés autour d'elle pour le déroulement des autres activités.

Résumé

La création d'un laboratoire fonctionnel destiné à réaliser des cultures uniquement ou des cultures/TDS est rarement le fruit du hasard. Elle nécessite la collaboration de personnes apportant des compétences spécialisées pour aider à identifier les problèmes et à développer une stratégie de solutions par la conception, la construction et l'aménagement. Les contributions du personnel de laboratoire et des spécialistes du laboratoire de TB sont essentiels pour aider à créer un laboratoire fonctionnel et un environnement de travail sûr.

3

ÉQUIPEMENT DE PROTECTION INDIVIDUELLE

Ce chapitre fournit des conseils concernant l'applicabilité, l'utilisation et la disponibilité des équipements de protection individuelle (EPI) dans un laboratoire de TB.

	PAGE
Blouses et sarraus	42
Gants	45
Masques respiratoires	49
Masques chirurgicaux	55
Protection oculaire et faciale	56
Chaussures	58
Résumé	58

L'équipement de protection individuelle constitue une barrière physique pour minimiser le risque d'exposition aux aérosols, aux éclaboussures et aux inoculations accidentelles. Le port de l'EPI est obligatoire à tout moment dans le laboratoire.

Les EPI mal ajustés, inappropriés ou mal portés réduisent leur efficacité et peuvent créer un faux sentiment de sécurité. Le choix des EPI dépend du type de travail effectué et du risque à réduire.

Tous les EPI doivent être fournis par le laboratoire. Les EPI doivent être jetables et non réutilisables.

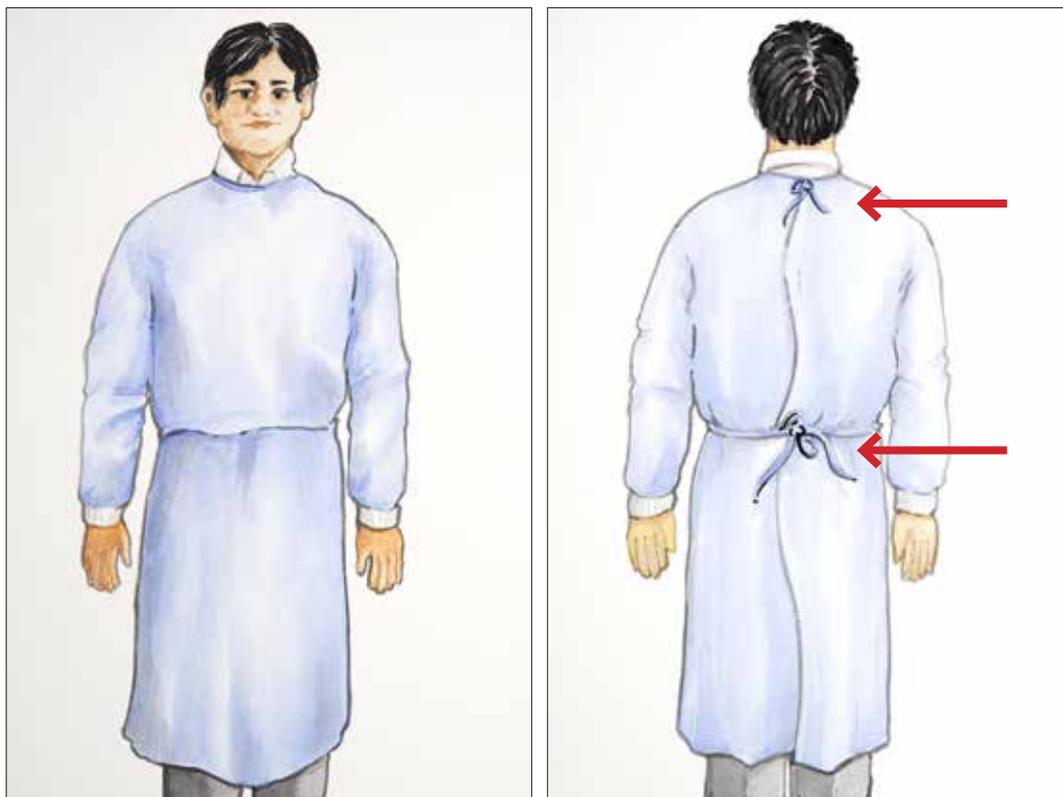
Le personnel ne doit pas rapporter à la maison des EPI en vue de les laver, les éliminer ou les utiliser en dehors du laboratoire.

Blouses et sarraus



Blouses

Les blouses de laboratoire doivent s'attacher à l'arrière, offrant une protection sur le devant.

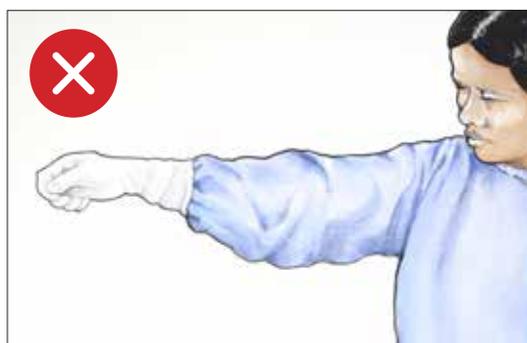
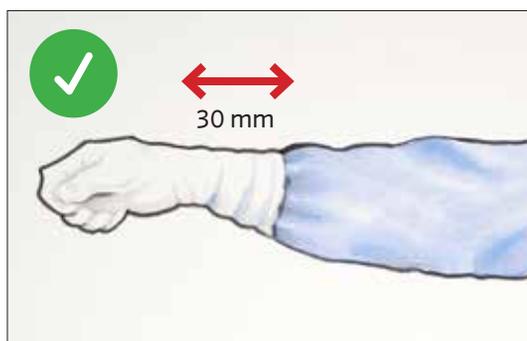


Les blouses peuvent être jetables ou réutilisables

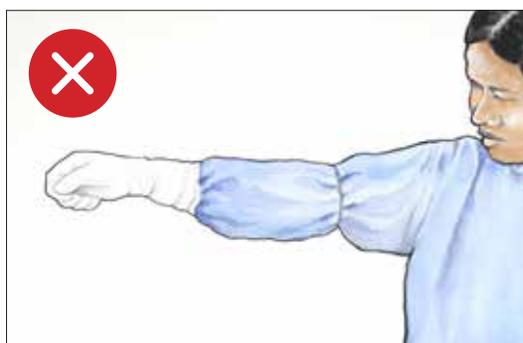
- Les blouses réutilisables doivent subir un traitement autoclave (121 °C pendant 15 minutes) avant d'être emportées pour le nettoyage
- En cas d'utilisation de blouses réutilisables, il doit y avoir au moins trois blouses disponibles par membre du personnel
 - En cours d'utilisation
 - En cours de nettoyage
 - Prête à l'emploi
- Les blouses doivent être changées chaque semaine ou après un déversement évident
- Les blouses doivent être disponibles en petites, moyennes et grandes tailles

Caractéristiques

- Liens au cou et à la taille
- Couverture complète à l'avant
- Manchettes élastiques d'au moins 30 mm
- Longueur suffisante pour que la blouse couvre entièrement les genoux en position assise
- Matériau non absorbant



Manche trop grande



Ne pas attacher



L'UTILISATION DE BLOUSES JETABLES EST FORTEMENT RECOMMANDÉE

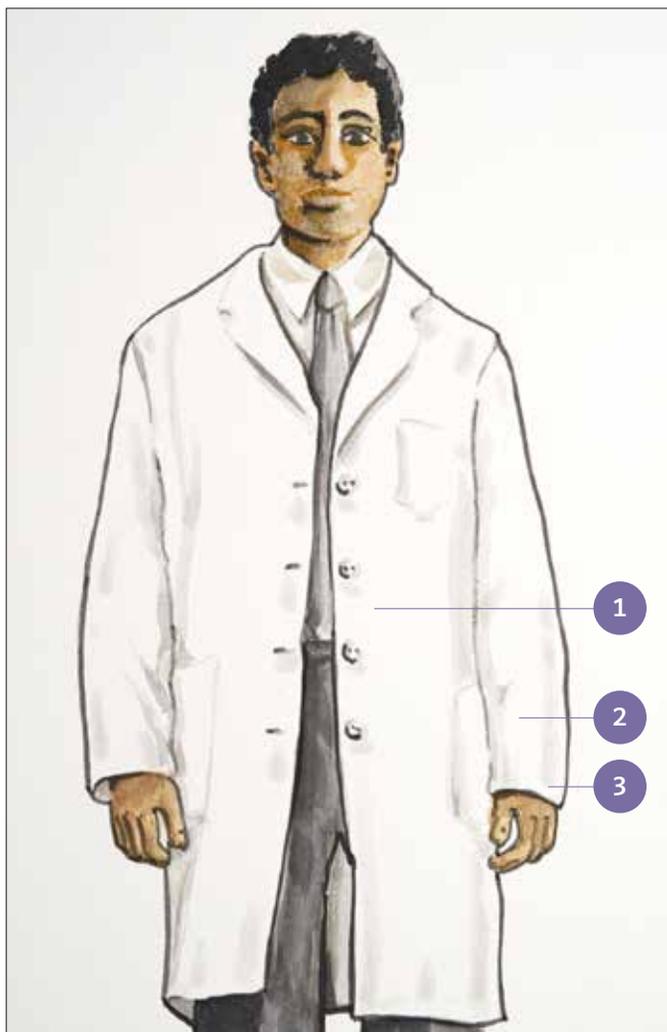
Les blouses ne doivent pas être portées en dehors du laboratoire.

Les blouses ne doivent pas être rangées au même endroit que les vêtements de ville.

Ne pas utiliser de blouses avec un masque attaché.

Sarraus

Les sarraus de laboratoire s'ouvrent sur le devant et peuvent avoir des manches courtes ou longues.

**Sarraus de laboratoire**

- 1 Ouvert à l'avant, n'offre pas de protection pour la culture ou les TDS
- 2 A des manches courtes ou longues
- 3 N'a pas de tour de poignets élastiques



LES SARRAUS NE DOIVENT PAS ÊTRE UTILISÉS DANS LES LABORATOIRES EFFECTUANT DES CULTURES OU DES TDS



Gants

Seuls des gants jetables doivent être portés dans un laboratoire TB.



NE PAS PORTER À NOUVEAU DES GANTS USAGÉS

Plusieurs paires de gants seront utilisées chaque jour, un approvisionnement suffisant doit être facilement disponible.



Des gants doivent être portés pour toutes les procédures qui impliquent un contact avec des échantillons ou des équipements de laboratoire dans le cadre de la manipulation d'échantillons ou de cultures.

Des réactions allergiques telles que des éruptions cutanées (dermatites) et des réactions d'hypersensibilité peuvent se produire chez le personnel portant des gants en latex (poudrés et non poudrés). Les matériaux de gants alternatifs comprennent le vinyle et le nitrile, qui provoquent rarement des réactions allergiques.



Ne pas sortir les gants du laboratoire.

Porter des gants

Des gants de différentes tailles doivent être disponibles (petits, moyens, grands). Des gants mal ajustés réduisent la dextérité des doigts et augmentent le risque de contamination des gants et d'accidents.

- Se déchirent trop facilement si trop petits
- Perte trop importante de la motricité fine si trop grands



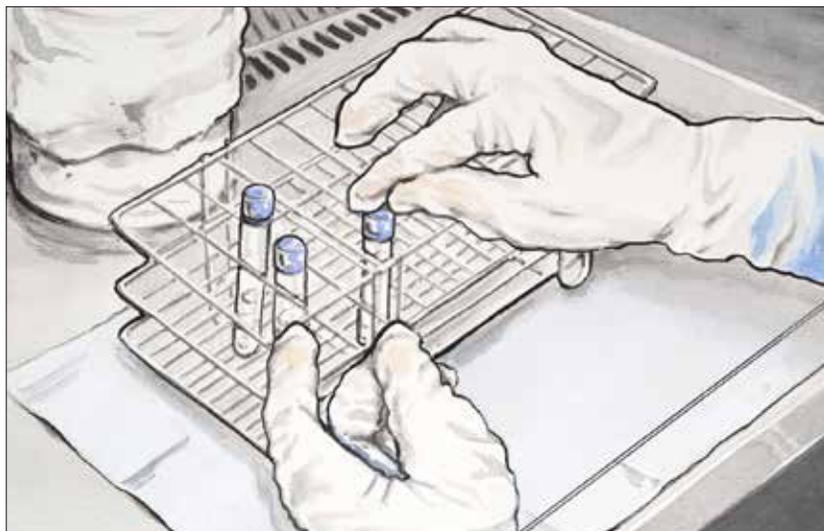
Gants correctement ajustés



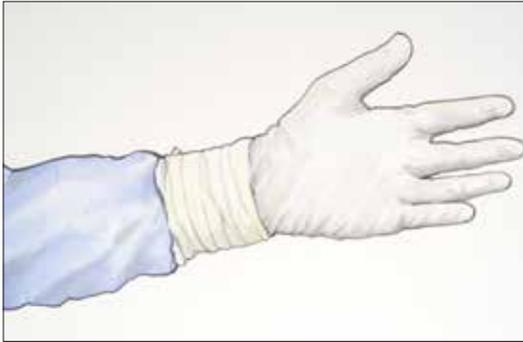
Gants mal ajustés



Les gants doivent couvrir les poignets sur 30 mm au moins
Les gants couvrent toujours les poignets



La motricité fine est compromise par des gants trop grands



Ne pas coller les gants aux poignets



Remplacer immédiatement des gants déchirés



Ne jamais utiliser son téléphone portable en portant des gants ou en travaillant au laboratoire

Enlever des gants

Les gants usagés doivent être jetés dans une poubelle pour déchets infectieux de laboratoire.



- 1 Tenir la manchette du gant de l'autre main et retirer lentement le gant de la main
- 2 Rouler le gant utilisé dans la paume de l'autre main et fermer les doigts
- 3 Glisser soigneusement les doigts non gantés sous la manchette de la main gantée ; veiller à ne pas toucher la surface extérieure du gant
- 4 Retirer le gant de telle sorte que le gant tenu soit maintenant à l'intérieur du gant en train d'être enlevé
- 5 Jeter les gants dans une poubelle à déchets infectieux



Une fois les gants enlevés, se laver immédiatement les mains.

Masques respiratoires

Les masques respiratoires et les masques chirurgicaux sont des choses différentes. Les masques chirurgicaux n'offrent aucune protection respiratoire efficace contre les aérosols et ne doivent pas être utilisés.

Les masques respiratoires doivent filtrer plus de 95 % des particules infectieuses de taille supérieure à 0,2 µm.

Les masques respiratoires N95 et FFP2 répondent aux exigences et sont des dispositifs légers et jetables qui couvrent le nez et la bouche.

Les masques respiratoires FFP2 et N95 peuvent être munis ou non d'une valve.

- Les masques respiratoires « à valve » permettent à l'air expiré de passer facilement des poumons à l'environnement mais se ferment lors de l'inspiration
- Les masques respiratoires « sans valve » ne disposent pas de valve

Les masques respiratoires ne sont généralement pas nécessaires pour travailler dans un laboratoire TB réalisant des cultures. Toutefois, ils doivent être portés lors de la réalisation des TDS.

Ils peuvent être réutilisés à condition qu'ils soient correctement portés, stockés et entretenus.

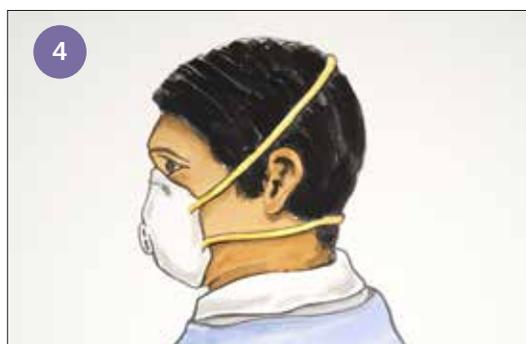


LES MASQUES RESPIRATOIRES NE REMPLACENT PAS UNE ESB CORRECTEMENT ENTRETENUE ET FONCTIONNELLE

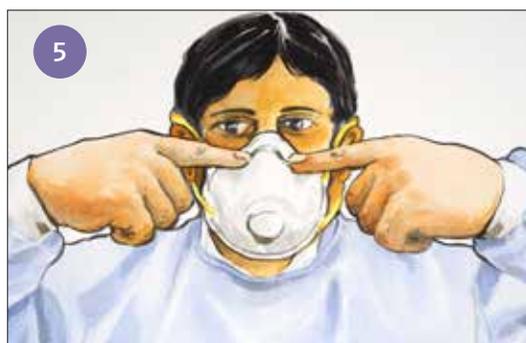
Si des masques respiratoires sont utilisés, le personnel doit être

- Formé pour les utiliser correctement ;
- Formé à leur entretien.

Comment porter correctement un masque respiratoire



- 1 Tenir le masque dans la paume de votre main, les liens en dessous et alignés de manière appropriée
- 2 Positionner le masque sous le menton et le placer doucement sur le visage
- 3 Placer le lien supérieur sur la tête, le placer en hauteur à l'arrière de la tête et au-dessus des oreilles
- 4 Faire passer le lien inférieur au-dessus de la tête et le placer sous les oreilles
- 5 Placer le bout des doigts des deux mains sur la bande métallique et appuyer de façon à ce qu'elle épouse les contours du nez. Expirer et inhaler pour vérifier qu'il y a assez de pression et détecter d'éventuelles fuites



TOUJOURS UTILISER LES DOIGTS DES DEUX MAINS ENSEMBLE - L'UTILISATION D'UNE SEULE MAIN PEUT ENTRAÎNER UN MAUVAIS AJUSTEMENT

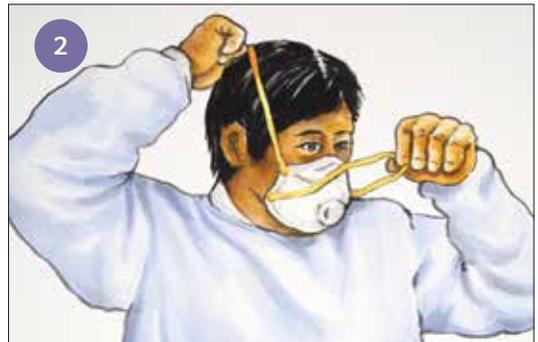
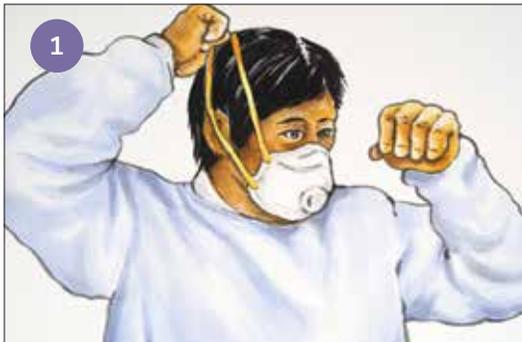


LES BARBES ÉPAISSES PEUVENT EMPÊCHER UNE ÉTANCHÉITÉ EFFICACE ENTRE LE VISAGE ET LE MASQUE RESPIRATOIRE



Enlever correctement un masque respiratoire

Enlever les gants et se laver correctement les mains.



- 1 Localiser le lien inférieur et le faire passer au-dessus de la tête ; relâcher la tension et le tenir dans une main
- 2 Localiser le lien supérieur et le faire passer au-dessus de la tête ; relâcher la tension et le tenir dans une main
- 3 Enlever le masque du visage et tenir les deux liens dans une main

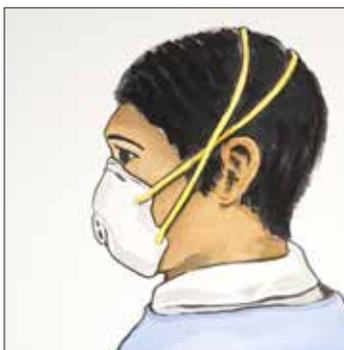
Ranger le masque respiratoire dans un endroit propre et sec (voir le chapitre « Entretien d'un masque respiratoire »)

Se laver les mains immédiatement

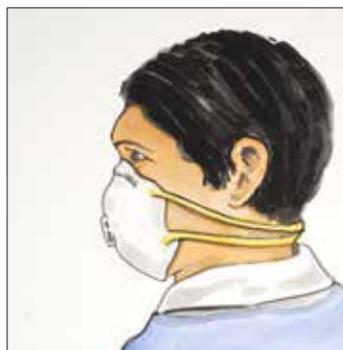


Erreurs courantes

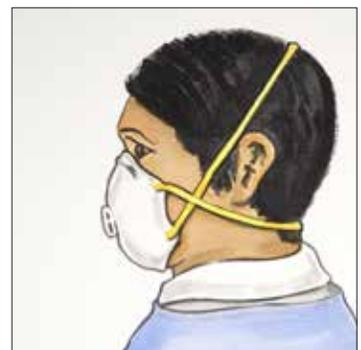
Des liens mal placés.



Les deux liens au-dessus des oreilles



Les deux liens en dessous des oreilles



Les liens croisés

Erreurs courantes



Bande métallique mal placée - fente entre le visage et la bande



Placer le masque respiratoire autour du cou peut causer des dommages



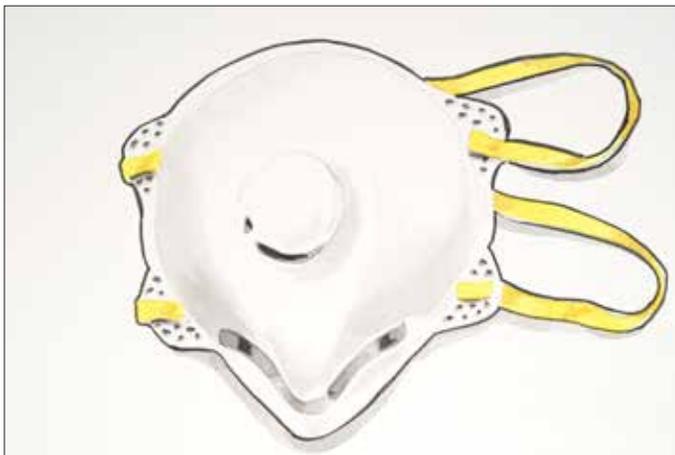
Placer le masque respiratoire sur le front peut causer des dommages

Entretien d'un masque respiratoire

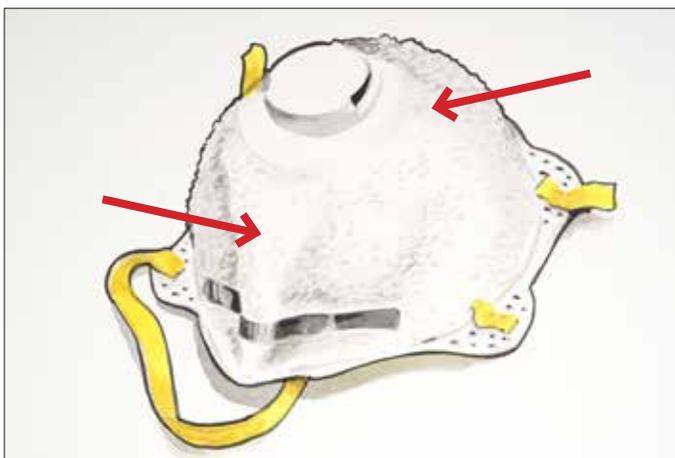
Avec de l'entretien, un masque respiratoire peut être réutilisé plusieurs fois sur une période de deux à trois semaines.

Avant toute utilisation, vérifier toujours soigneusement que

- Il n'y a pas de trous
- Les liens ne sont endommagés
- La surface du masque est propre et qu'il n'y a pas de fibres libres
- Les liens ne sont pas trop tendus



Avant utilisation, vérifier toujours soigneusement que le masque respiratoire n'est pas endommagé



Dommages de surface

Les conserver dans un sac en papier muni de trous d'aération pour permettre à l'humidité de s'évaporer.

Ne pas désinfecter, nettoyer ou réparer les masques respiratoires endommagés ; les jeter dans une poubelle à déchets biologiques et se procurer un nouveau masque respiratoire.

Ne pas utiliser un sac en plastique pour ranger un masque respiratoire, car l'humidité ne peut pas s'évaporer.



Ranger les masques respiratoires dans des sacs en papier avec des trous d'aération



Ne pas l'accrocher par les liens

Un masque respiratoire doit être stocké dans un endroit bien ventilé lorsqu'il n'est pas utilisé afin qu'il puisse sécher.



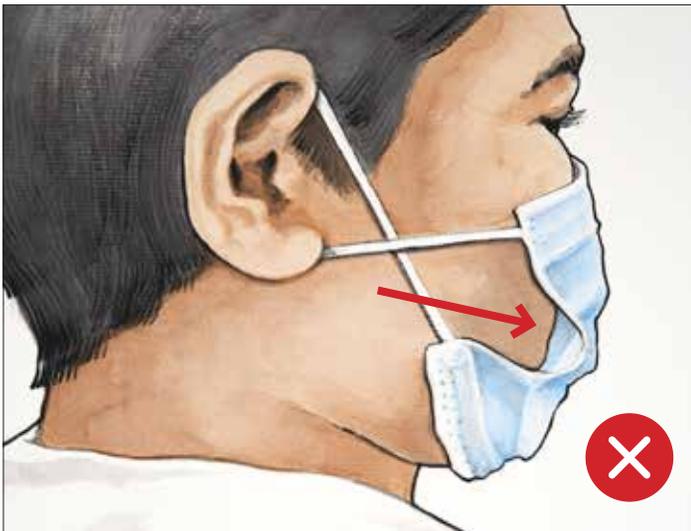
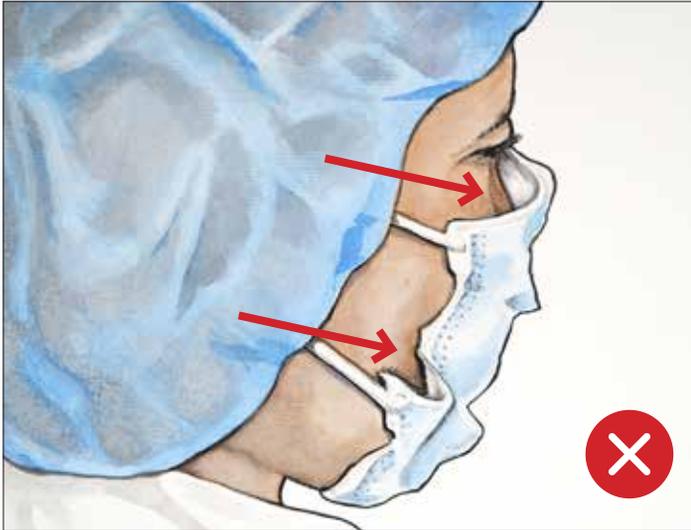
**NE PAS RANGER UN MASQUE RESPIRATOIRE DANS UNE
POCHE CELA ENDOMMAGERAIT SA FORME**

Essai d'ajustement des masques respiratoires

Les essais d'ajustement requièrent un équipement spécialisé et du personnel formé qui ne sont généralement pas disponibles dans de nombreux contextes. En outre, les différentes caractéristiques, formes et tailles du visage nécessiteront une gamme de masques respiratoires différents pour se conformer aux diverses normes.

Masques chirurgicaux

Les masques chirurgicaux n'offrent aucune protection respiratoire efficace contre les aérosols et ne doivent pas être utilisés dans un laboratoire.



**LES MASQUES CHIRURGICAUX N'OFFRENT
AUCUNE PROTECTION RESPIRATOIRE EFFICACE**

Protection oculaire et faciale

Le choix de l'équipement pour protéger les yeux et le visage contre les éclaboussures est déterminé en fonction du type d'activité du laboratoire.

L'équipement doit être disponible à tout moment dans le laboratoire.

Options d'équipement

Les lunettes de protection sont fabriquées en plastique incassable et recourbées sur les côtés. Certains écrans faciaux de protection sont conçus pour s'adapter aux lunettes de vue standard.

Les écrans faciaux sont fabriqués en plastique incassable, couvrent l'avant et les côtés du visage et sont maintenus en place par un bandeau.

Les lunettes de vue et les lentilles de contact n'offrent pas de protection.



NE PAS UTILISER DE LUNETTES ET DE LENTILLES DE CONTACT COMME PROTECTION OCULAIRE

Sélection des équipements

Type	Activité	Commentaires
Lunettes de sécurité ou écrans de protection	Dilution d'acides forts pour les réactifs de décoloration dans les manipulations de coloration Préparation de solutions fortement alcalines (NaOH 4 %) pour la décontamination des échantillons Kit de nettoyage	Toujours ajouter des acides forts à l'eau. De la chaleur sera générée, ajouter lentement de l'acide et mélanger De la chaleur sera générée, ajouter lentement des granulés de NaOH et mélanger
Écran facial (voir page 137)	Déballage d'un autoclave	Après l'autoclavage, un grand volume de liquide bouillant peut déborder en cas de déplacement avant le refroidissement



Les lunettes de sécurité sont fabriquées en plastique incassable et recourbées sur les côtés



L'écran de protection recouvre les lunettes de vue, est fabriqué en plastique incassable et couvre le devant et les côtés du visage

Chaussures

Les chaussures doivent couvrir les orteils, la partie supérieure des pieds, et avoir une fermeture à l'arrière du talon de sorte que la chaussure ne puisse pas être enlevée facilement.

Les chaussures telles que les tongs et les sandales n'offrent pas de protection contre les blessures physiques dues aux coups d'orteils sur des structures solides, aux chutes d'objets lourds sur les pieds, aux coupures d'objets tranchants et aux éclaboussures de matières/liquides infectieux.



Chaussures adaptées



Chaussures inadaptées

Résumé

Le port correct des EPI constitue une barrière importante contre les aérosols et la contamination. Toutefois, le port d'un EPI ne protège pas l'utilisateur contre les pratiques de travail dangereuses.

4

UTILISATION D'UNE ENCEINTE DE SÉCURITÉ BIOLOGIQUE

Ce chapitre fournit des conseils pratiques sur l'emplacement, l'utilisation et l'entretien des enceintes de sécurité biologique.

	PAGE
Mythes sur la sécurité	60
Alarmes et fonctionnement de l'ESB	60
Comment une ESB protège-t-elle ?	60
Emplacement d'une ESB	62
Ergonomie	64
Travailler dans une ESB	66
Séparation des zones de travail	68
Mouvement du corps au sein d'une ESB	69
Aménagement de l'ESB	70
Après avoir travaillé dans une ESB	73
Fumigation	74
Certification	75
Résumé	76

Mythes sur la sécurité

L'un des mythes les plus tenaces entretenus par le personnel de laboratoire dans le monde entier est qu'une ESB assure une protection complète contre le matériel infectieux qu'il contient. Cela n'est pas vrai.



DES PRATIQUES DE TRAVAIL SÛRES SONT VOTRE MEILLEURE PROTECTION

Une mauvaise technique lors de l'utilisation d'une ESB vous exposera à une infection potentielle.

- Une ESB peut maintenir le niveau de stérilité que vous créez, elle ne peut pas le produire elle-même
- Vos actions doivent toujours compléter le fonctionnement de l'ESB
- Vous prévenez la contamination croisée en utilisant des pratiques de travail sûres

Alarmes et fonctionnement de l'ESB

La plupart des ESB sont équipées d'alarmes à la fois visuelles et sonores. Les alarmes de l'ESB vous avertissent qu'elle ne peut plus être utilisée en toute sécurité que ses fonctions de protection peuvent ne pas fonctionner correctement.

Avant d'utiliser une ESB, familiarisez-vous avec les alarmes. Vérifiez les instructions du fabricant pour vous assurer que le fonctionnement de l'ESB est parfaitement compris avant utilisation.

Le laboratoire doit disposer à tout moment d'une copie des instructions relatives à l'équipement.

Les alarmes sont des instructions - vous devez agir lorsque vous entendez une alarme.



**LORSQU'UNE ALARME SE MET EN ROUTE, ARRÊTER IMMÉDIATEMENT LE TRAVAIL
ET INFORMER LE SUPERVISEUR OU LE RESPONSABLE DU LABORATOIRE**

**NE PAS APPUYER SUR LE BOUTON DE COUPURE DU SON
ET NE PAS CONTINUER À TRAVAILLER**

Comment une ESB protège-t-elle ?

Les ESB sont catégorisées en classe I, classe II ou classe III.

Classe I

Les ESB de classe I aspirent l'air ambiant non filtré par l'ouverture frontale, le font passer au-dessus de la surface de travail et l'expulsent par un conduit d'évacuation et à travers un filtre HEPA.

Les ESB de classe I protègent le travailleur mais ne protègent pas la zone de travail contre la contamination car l'air ambiant non filtré est aspiré dans l'enceinte et au-dessus de la surface de travail.

Classe II

Les ESB de classe 2 aspirent environ 70 % de l'air purifié du filtre HEPA au-dessus de la zone de travail et environ 30 % de l'air à travers la grille avant.

4

UTILISATION D'UNE ENCEINTE DE SÉCURITÉ BIOLOGIQUE

La classe II assure la protection de l'utilisateur, de l'environnement et de la zone de travail. Il existe quatre types d'ESB de classe II : A1, A2, B1 et B2. Le type A2 est le plus approprié pour tous les travaux dans le cadre de la tuberculose.



LES ESB DE CLASSE II TYPE A2 SONT RECOMMANDÉES POUR TOUS LES TRAVAUX DANS LE CADRE DE LA TUBERCULOSE

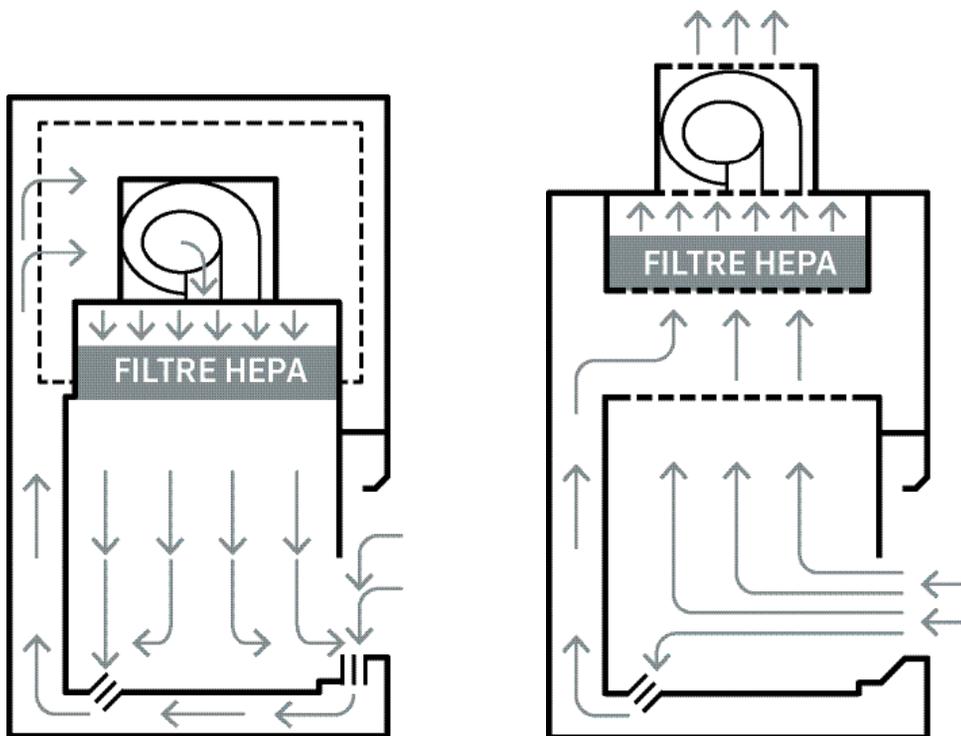
Classe III

Également appelées « boîtes à gants », elles ne sont généralement installées que dans les laboratoires à confinement maximal.



NE PAS UTILISER D'ESB DE CLASSE III DANS LES LABORATOIRES DE TB

L'ESB doit être connectée à une alimentation électrique stabilisée, idéalement par l'intermédiaire d'une ASI de capacité suffisante pour que l'ESB puisse fonctionner pendant au moins 15 minutes. Lorsqu'une panne de courant se produit, le travail doit s'arrêter immédiatement et les 15 minutes doivent être utilisées pour débarrasser l'enceinte des aérosols.



Les ESB de classe 2 sont recommandées pour tous les travaux dans le cadre de la TB car elles protègent à la fois le technicien et la zone de travail



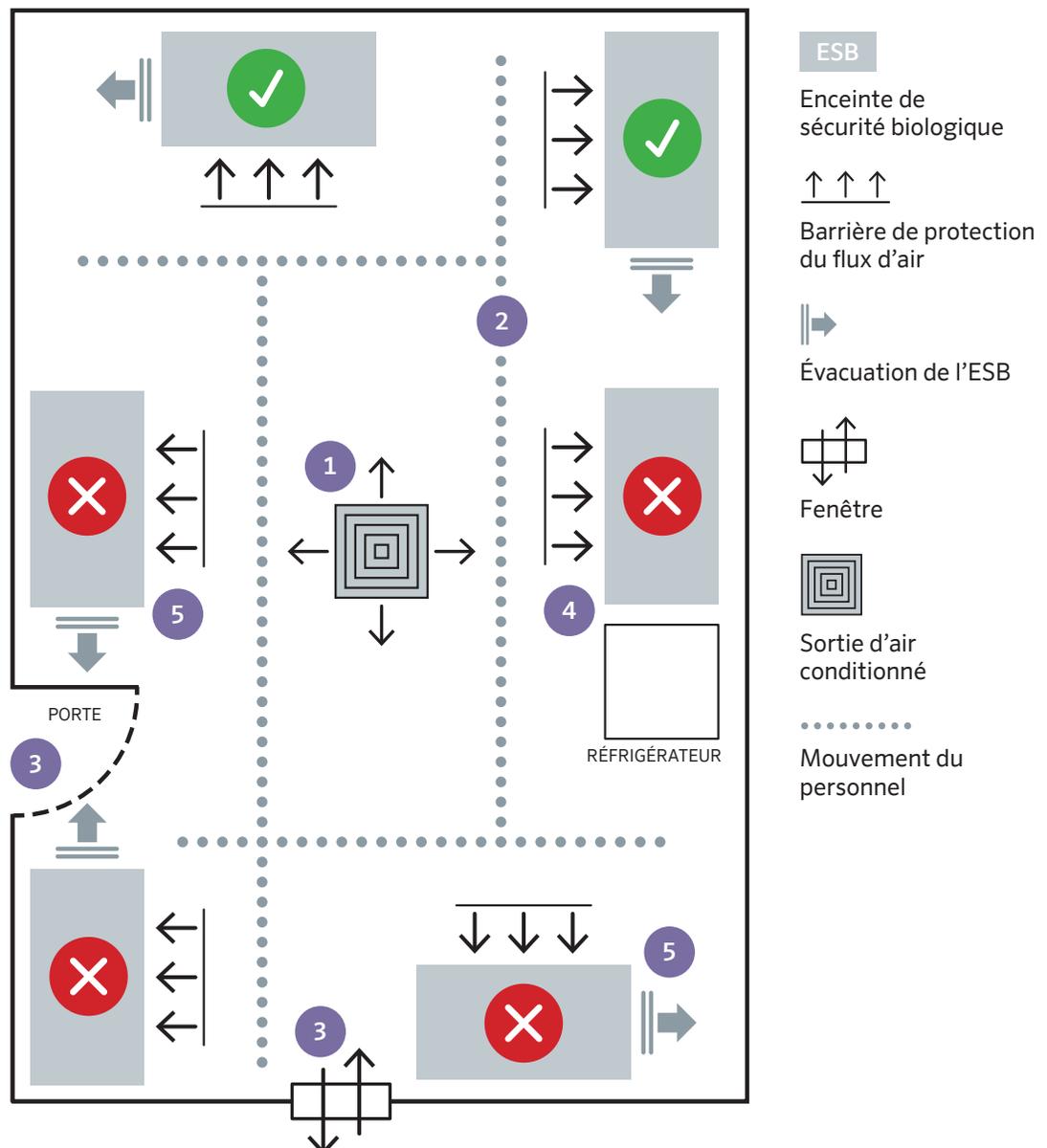
Les ESB de classe 1 protègent le travailleur mais ne protègent pas la zone de travail contre la contamination car l'air ambiant non filtré est aspiré dans l'enceinte et au-dessus de la surface de travail

Emplacement d'une ESB

Pour savoir où placer une ESB dans un laboratoire, il faut tenir compte de tous les mouvements d'air risquant de compromettre son efficacité.

Le rideau d'air qui permet d'assurer la protection lors du travail dans une ESB est fragile. Sa capacité de protection est facilement endommagée par d'autres mouvements d'air. Les grands volumes d'air déplacés par les climatiseurs et les ventilateurs constituent un risque évident, mais le simple fait d'ouvrir et de fermer des portes ou de s'approcher trop près d'une ESB peut faire rompre le fragile rideau d'air protecteur. Une ESB ne doit pas être placée à proximité de zones à forte circulation.

Localisation d'une ESB au sein de votre laboratoire



Emplacement d'une ESB

La figure ci-contre illustre certains des défis communs auxquels l'on peut être confronté pour prendre une décision.

1 Mouvement de l'air

Les climatiseurs forcent l'air à travers la pièce, ce qui peut compromettre le rideau d'air à plus de 3 mètres de distance

2 Mouvement des personnes

La marche crée un mouvement d'air

Prévoir 1,5 mètre entre une ESB et les zones de circulation des laboratoires

Dans les petits laboratoires, limiter les déplacements des personnes à l'intérieur du laboratoire lorsque l'ESB est utilisée

3 Portes et fenêtres

L'ouverture et la fermeture des portes peuvent créer un mouvement d'air suffisant pour perturber le rideau d'air

Les fenêtres ouvertes entraînent une perturbation du flux d'air à l'intérieur et à l'extérieur du laboratoire

Toujours fermer et verrouiller les fenêtres des laboratoires à risque modéré ou élevé de TB

4 Localisation des autres équipements

L'évacuation d'une autre ESB ou d'un autre équipement peut perturber le rideau d'air

Prendre soigneusement en compte l'influence de tous les autres équipements et leur effet sur le mouvement de l'air lors du choix de l'emplacement d'une ESB

5 Dégagement

Le fait de placer une ESB trop près d'un mur ou d'un plafond peut créer une contre-pression compromettant la fonction de l'ESB

Prévoir une distance minimale de 35 cm de chaque côté et au-dessus de l'ESB

Support de l'ESB

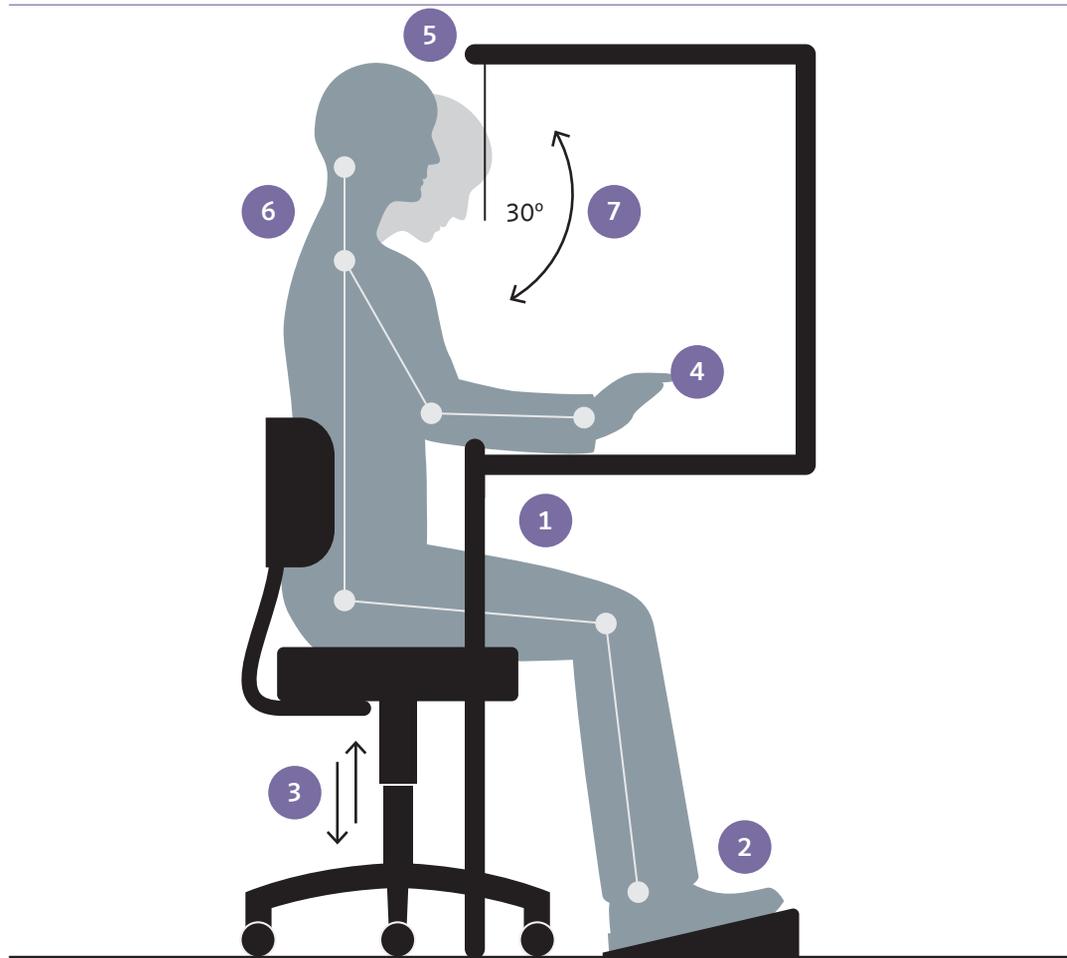
Une ESB doit être placée sur une paillasse ou un support dédié qui peut supporter plusieurs centaines de kilogrammes en toute sécurité

Un support peut comporter des roues verrouillables pour faciliter le déplacement de l'ESB dans le laboratoire

S'assurer que l'ESB est de niveau

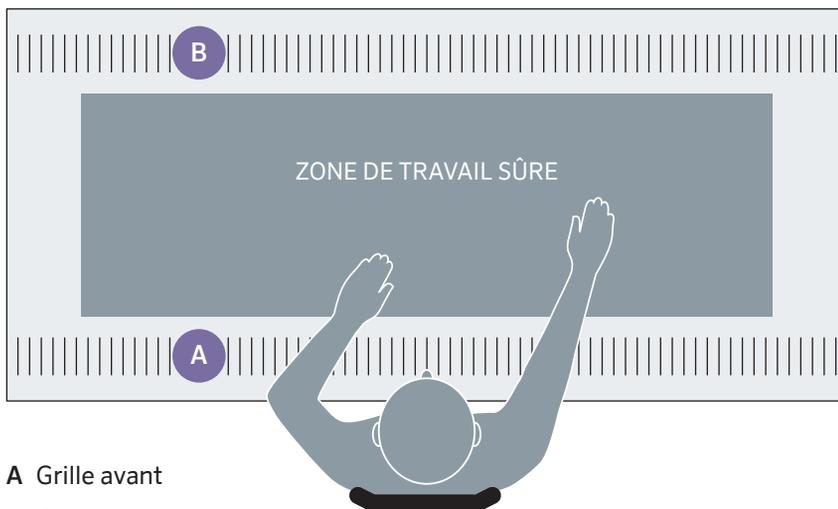
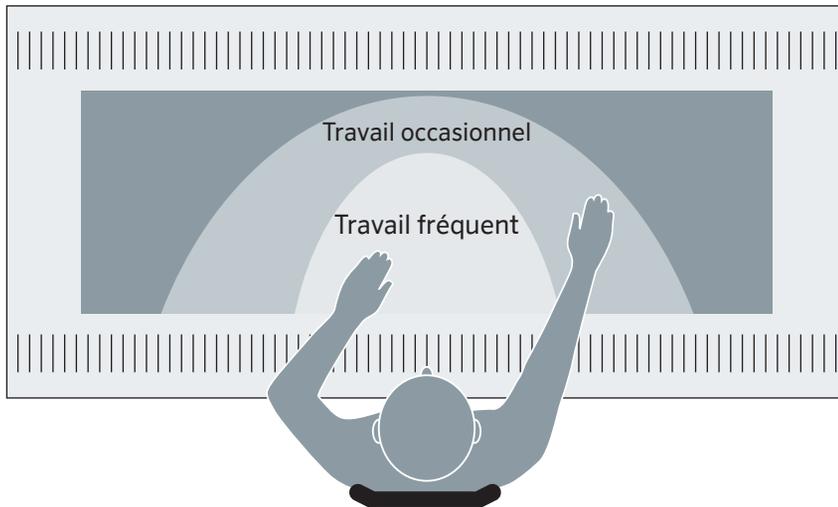
Ergonomie

Vous pouvez passer plusieurs heures par jour à travailler dans une ESB. Une bonne ergonomie est essentielle pour permettre de se concentrer sur le travail que vous faites, et de le faire en toute sécurité. Pour réduire les étirements, placer l'ESB près du bord de la paillasse



- 1 Y a-t-il assez d'espace sous la paillasse pour s'asseoir confortablement et bouger les jambes ?
Faire attention aux armoires et aux supports de paillasse qui limitent les mouvements
- 2 Peut-on poser les pieds à plat sur le sol ?
Sinon, utiliser un repose-pieds
- 3 La hauteur du fauteuil est-elle réglable de manière à ce que les avant-bras reposent horizontalement sur l'avant de l'ESB ?
- 4 Les installations de l'ESB (comme les prises électriques) sont-elles facilement accessibles, de sorte qu'il n'est pas nécessaire de se tourner ou se pencher pour les atteindre ?
- 5 L'ESB a-t-elle un écran de protection contre la lumière pour se protéger de la lumière et de la chaleur ?
- 6 Peut-on s'asseoir, en gardant son dos droit et son cou, ses épaules et ses bras détendus ?
- 7 Réduire le degré de torsion de la tête et du corps à moins de 30° pour toutes les activités courantes

Centrer sa zone de travail au sein de l'ESB pour limiter les étirements ou les torsions.



A Grille avant

B Grille arrière

■ Zone de travail sûre

Travailler dans une ESB



Un seul travailleur doit travailler dans l'ESB ; s'il y a plus d'une personne, cela endommagerait le rideau d'air frontal et permettrait la libération d'aérosols.



Lorsque l'ESB est petite, il n'y a pas assez d'espace pour conserver tout le matériel nécessaire dans l'enceinte. Il est préférable de stocker l'équipement propre sur un chariot, afin qu'il soit facilement accessible sans interruption du travail.



Zones de grilles

- La grille avant (A) permet de créer et de maintenir le rideau d'air de protection
- La grille arrière (B) contribue à maintenir un flux laminaire dans l'ESB et collecte l'air à évacuer

Si les grilles sont bloquées, même partiellement, leur efficacité est réduite et les performances de l'ESB sont compromises.



4

UTILISATION D'UNE ENCEINTE DE SÉCURITÉ BIOLOGIQUE



Les deux grilles doivent être parfaitement dégagées à tout moment



Ne pas travailler ou placer des objets sur la grille

Flammes nues

Les flammes ouvertes (nues) ne doivent pas être utilisées au sein d'une ESB.

- Le mouvement de l'air chaud peut avoir un effet négatif sur les flux d'air dans l'ESB
- L'air chaud des brûleurs Bunsen peut endommager le filtre HEPA qui est fragile



Si la chaleur doit être utilisée pour stériliser les anses, utiliser un incinérateur électrique



Les flammes ouvertes (nues) ne doivent pas être utilisées au sein d'une ESB



L'UTILISATION D'ANSES ET DE PIPETTES STÉRILES JETABLES EST FORTEMENT RECOMMANDÉE

Séparation des zones de travail

La tâche à accomplir détermine les éléments dont vous avez besoin dans l'ESB. Le stockage d'équipements supplémentaires dans l'ESB augmente le risque de contamination croisée.



UNE ESB N'EST PAS UNE ARMOIRE DE STOCKAGE - RETIRER LES ARTICLES QUI NE SONT PAS NÉCESSAIRES À LA TÂCHE

L'espace au sein de l'ESB est assez restreint, il est important de séparer les activités relativement « propres » des activités « sales ».



Aménagement suggéré pour le personnel droitier travaillant de gauche (propre) à droite (sale) - inversement pour le personnel gaucher. Les activités typiques comprennent

Côté gauche « Propre »

Vortex
Récipient contenant un (des) sac(s) d'anses stériles à usage unique et des pipettes à usage unique
Minuterie (vers l'avant)

Zone centrale (zone de travail principale)

Portoir contenant des échantillons (vers l'arrière)
Portoir contenant des tubes de centrifugation (vers l'arrière)
Portoir contenant du milieu (vers l'arrière)
Réactifs de décontamination (vers l'avant)
Godets de centrifugeuse (vers l'avant)

Côté droit « sale »

Bacs à déchets infectieux
Récipient pour objets tranchants
Portoir coulissant

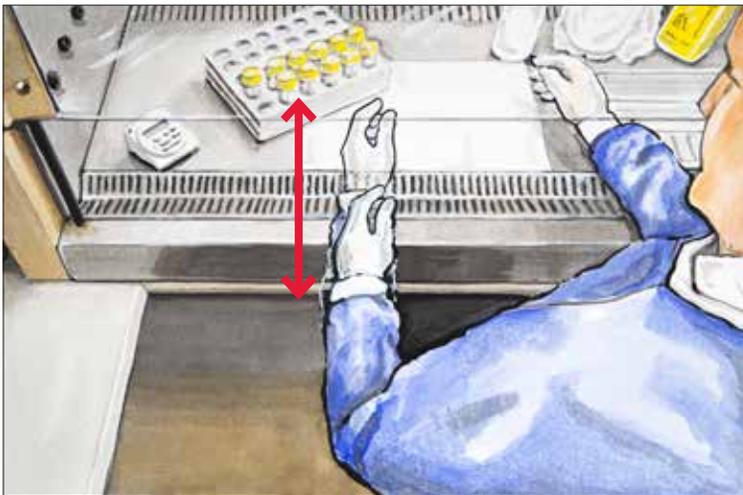
Mouvement du corps au sein d'une ESB

Le rideau d'air est très fragile et peut facilement être endommagé.

La réduction des mouvements d'entrée et de sortie, et des mouvements latéraux des bras dans l'ESB aidera à maintenir le rideau d'air.

Réduire au minimum tous les mouvements inutiles des bras - lors d'un mouvement, se déplacer lentement pour permettre au rideau d'air d'envelopper les bras dans de l'air filtré protecteur.

Une fois que les bras sont dans l'ESB - rester immobile pour permettre au rideau d'air de se rétablir et pour que les manches/gants soient balayés avec de l'air filtré.



Il faut 2 à 3 secondes pour terminer le mouvement



Minimiser les mouvements latéraux des bras

Aménagement de l'ESB

Traitement des échantillons

Le traitement des échantillons pour la culture se fait en trois étapes.

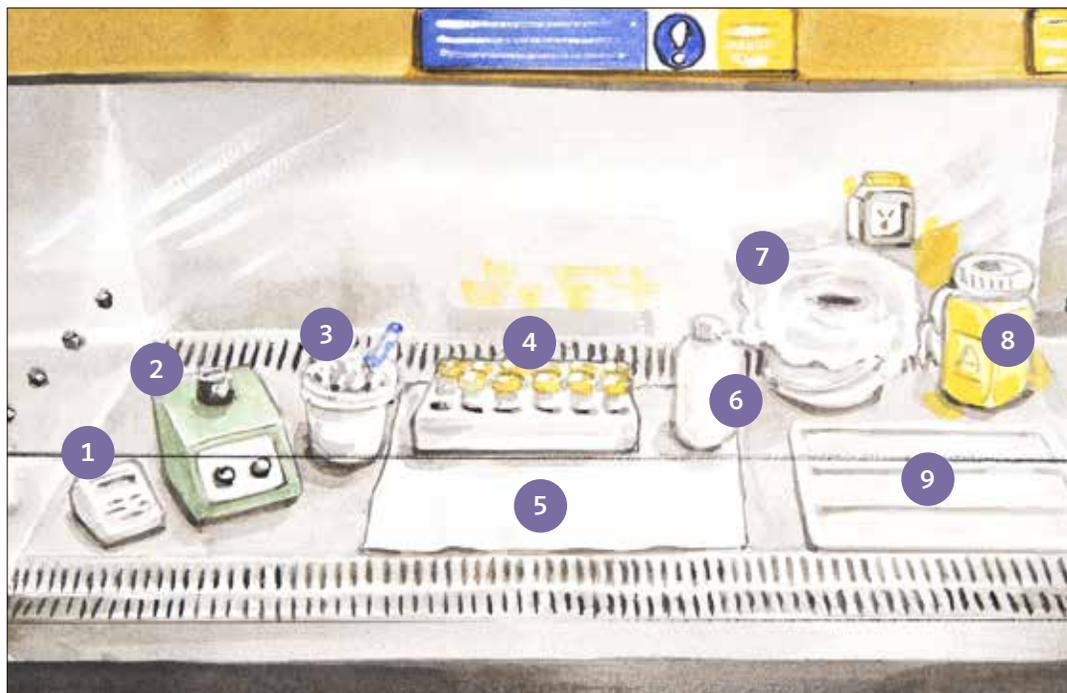
- 1 Décontamination des échantillons
- 2 Centrifugation
- 3 Inoculation un milieu de culture

Chaque étape du flux de travail nécessite des éléments spécifiques, retirer tous les éléments non requis pour l'étape de traitement effectuée.

Par exemple

- Le vortex n'est nécessaire que pendant la décontamination des échantillons et après centrifugation
 - L'essuyer avec de l'alcool à 70 % v/v et le retirer de l'ESB une fois la décontamination terminée
- Les réactifs de décontamination ne sont nécessaires que pendant la phase de décontamination des échantillons
- Les milieux solides ou liquides ne sont requis dans l'ESB qu'une fois la centrifugation terminée

Décontamination d'échantillons



1 Minuterie

2 Vortex

3 Anses et pipettes stériles jetables

4 Portoir avec tubes de centrifugation

5 Zone de travail centrale avec serviette absorbante

6 Réactif de décontamination

7 Bac à déchets

8 Récipient pour objets tranchants

9 Plateau coulissant



Supprimer les éléments non requis

4

UTILISATION D'UNE ENCEINTE DE SÉCURITÉ BIOLOGIQUE

Centrifugation

Les godets de centrifugeuses doivent toujours être remplis et vidés dans une ESB.



1 Vortex

2 Portoir avec tubes de centrifugation

3 Zone de travail centrale avec des godets de centrifugeuse

4 Réactif de dilution (PBS ou eau stérile)

5 Bac à déchets

6 Récipient pour objets tranchants

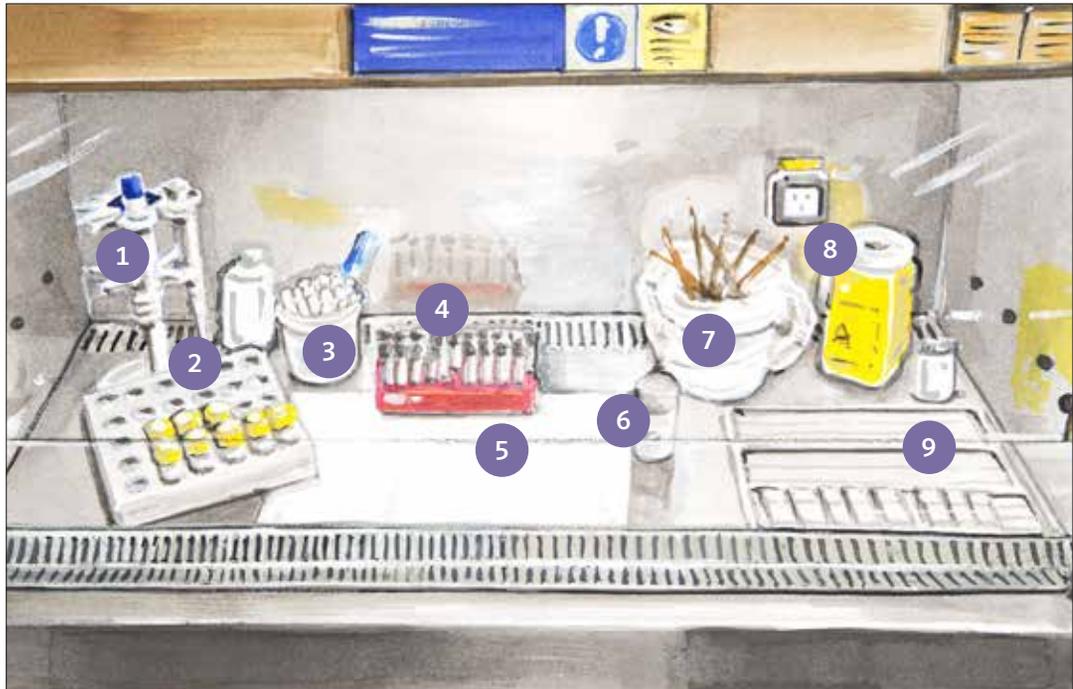


Supprimer les éléments non requis



UNE ESB N'EST PAS UNE ARMOIRE DE STOCKAGE - RETIRER LES ARTICLES QUI NE SONT PAS NÉCESSAIRES À LA TÂCHE

Inoculation d'un milieu de culture



- 1 Micropipettes
- 2 Portoir avec tubes de centrifugation
- 3 Anses et pipettes stériles jetables
- 4 Portoir contenant des tubes MGIT
- 5 Zone de travail centrale

- 6 Petit flacon de PBS ou d'eau stérile
- 7 Bac à déchets
- 8 Récipient pour objets tranchants
- 9 Portoir coulissant si les frottis sont préparés à partir de concentré



Supprimer les éléments non requis

TDS

En prenant la culture comme exemple, suivez une approche similaire pour les différentes étapes d'un TDS.

- 1 Ajout de solutions antituberculeuses dans les tubes MGIT
- 2 Préparation de l'inoculum
- 3 Inoculation des milieux de TDS

Pour chaque étape, des éléments spécifiques sont requis au sein de l'ESB - supprimer tous les éléments non requis pour la tâche spécifique effectuée.

Après avoir travaillé dans une ESB

**IL FAUT NETTOYER ET DÉCONTAMINER L'ESB APRÈS CHAQUE UTILISATION**

Lorsque le travail est fini

- Laisser l'ESB fonctionner pendant 15 minutes pour éliminer les aérosols
- Ne pas utiliser l'ESB et ne retirer aucun élément pendant cette période
- Après 15 minutes, décontaminer tous les éléments de l'ESB
- Retirer ensuite les éléments en laissant une ESB vide



- Essuyer la surface de travail, les parois internes et l'intérieur de la façade vitrée de l'ESB (alcool à 70 % v/v)



- Utiliser un racleur avec un manche long pour atteindre les parties difficiles



ESB vide prête à être nettoyée



Ne mettre aucune partie de son corps dans une ESB



Désinfectants à base de chlore

Les solutions à base de chlore, comme l'eau de Javel destinée à un usage domestique, sont très corrosives. En cas d'utilisation, rincer ensuite à l'eau stérile ou à l'éthanol à 70 % v/v.



Le chlore corrode l'acier inoxydable



Lampes à ultraviolets

Les lampes UV ne sont pas recommandées pour les ESB utilisées dans les laboratoires de TB.

- Les rayons UV ne pénètrent pas dans les surfaces solides et sont inefficaces sur les organismes secs
- L'exposition humaine aux rayons UV peut provoquer des lésions oculaires et des brûlures aiguës de la peau
- Les rayons UV décomposent les plastiques et autres matériaux utilisés dans une ESB
- L'intensité des lampes UV diminue au fil du temps, ce qui réduit l'efficacité

Fumigation



La fumigation implique la décontamination de l'ESB et doit être effectuée uniquement par un professionnel qualifié.

Une fumigation est nécessaire

- Après un déversement majeur de produits présentant un danger biologique ;
- Avant le remplacement des filtres HEPA ;
- Lorsque l'accès au plénum scellé est nécessaire ;
- Pour l'entretien ou le remplacement de composants ;
- Avant le déplacement de l'ESB vers un autre laboratoire ;
- Lors d'un changement d'activité au sein de l'ESB, par exemple pour passer des activités de tuberculose à la microbiologie de routine ;
- Avant l'évacuation de l'ESB pour la vente ou la récupération.

Certification

L'objectif de la certification est de se protéger en garantissant le bon fonctionnement de l'ESB.

Pour vérifier ses performances, l'ESB doit être certifié au moins une fois par an.

Un ingénieur qualifié doit évaluer l'ESB en utilisant une norme nationale ou internationale. Il est de la responsabilité de l'ingénieur de décontaminer l'ESB avant l'inspection.

Il incombe au responsable du laboratoire d'organiser la certification et d'informer le personnel que l'ESB peut être utilisée en toute sécurité.

La certification de l'ESB est requise

- Avant la première utilisation d'une ESB nouvellement installée ;
- Annuellement ;
- Lorsqu'une ESB est déplacée dans le laboratoire ;
- Chaque fois qu'un filtre HEPA est remplacé ;
- Chaque fois que des composants du plénum sont remplacés.

La certification doit être affichée sur l'ESB.

Résumé

Le bon fonctionnement de l'ESB est essentiel pour la culture et les TDS. Toutefois, le niveau de protection fourni dépend de la compétence du personnel des laboratoires. L'utilisation de techniques peu sûres lors de l'utilisation d'une ESB exposera le personnel à une infection potentielle.

5

GÉNÉRATION D'AÉROSOLS ET PRÉVENTION

L'objectif de ce chapitre est de comprendre les risques associés aux aérosols, comment ils sont créés et comment en minimiser la production.

	PAGE
Création d'aérosols	79
Minimiser la production d'aérosols	79
Résumé	84

Dans un laboratoire de TB, tous les aérosols doivent être considérés comme potentiellement infectieux. Les aérosols peuvent être inhalés et établir une infection. Une fois qu'ils se déposent sur une surface, ils ne sont pas réaérosolisés et ne sont plus infectieux. Cependant, ils peuvent contaminer des échantillons, l'équipement, les consommables et les réactifs, créant ainsi un risque de contamination croisée.

Des aérosols peuvent se former lors de procédures telles que le pipetage, le vortexage, la centrifugation ou l'agitation des échantillons ou des cultures.

Les facteurs clés de l'infectiosité des aérosols sont

- La taille ;
- La charge bacillaire ;
- La viscosité.

Taille

Plus l'aérosol est petit, plus il est capable de rester longtemps dans l'air.

- Des aérosols plus petits peuvent pénétrer plus profondément dans les poumons, ce qui augmente le risque d'infection
- Les aérosols ne sont infectieux pour les êtres humains que lorsqu'ils sont en suspension dans l'air

Sédimentation de gouttelettes d'eau dans l'air saturé



Charge bacillaire

La charge bacillaire varie en fonction de la concentration des organismes dans le matériau manipulé.

- Pour les échantillons à frottis positif, la charge bacillaire d'un petit échantillon est de 10^3 à 10^4 organismes par ml, mais peut atteindre 10^6 par ml pour un frottis positif avec un degré 3+
- Les cultures positives peuvent avoir une charge bacillaire beaucoup plus élevée (10^8 à 10^{10} organismes par ml), c'est pourquoi les aérosols des cultures présentent un plus grand risque d'infection

Viscosité

La viscosité d'un matériau affecte sa capacité à former des aérosols. La viscosité des échantillons d'expectorations réduit la probabilité de générer des aérosols. En revanche, le risque d'aérosolisation est beaucoup plus élevé lors de la manipulation d'une culture liquide positive.



LA PLUPART DES AÉROSOLS GÉNÉRÉS SONT SI PETITS QU'ILS SONT INVISIBLES À L'ŒIL NU

Création d'aérosols

Le fait de mettre de l'énergie dans un liquide crée des aérosols.

Plus d'énergie = des aérosols plus petits et plus nombreux = plus de noyaux de gouttelettes = risque accru

Les procédures et pratiques à risque élevé qui peuvent augmenter le potentiel de création d'aérosols (qui deviennent alors des noyaux de gouttelettes) comprennent

- les procédures mécaniques (utilisation du vortex, centrifugation, agitation) ;
- le versement/le renversement ;
- le pipetage.

Minimiser la production d'aérosols

Travailler en toute sécurité pour minimiser la production d'aérosols est l'une des actions les plus importantes lorsqu'on travaille dans un laboratoire de TB.

Récipients

Tout récipient qui sera passé au vortex, centrifugé ou secoué, doit avoir un couvercle étanche et être suffisamment solide pour résister aux forces mécaniques exercées sur lui.

Après vortexage ou agitation

Échantillons

- Ne pas ouvrir le couvercle d'un échantillon agité ou passé au vortex pendant au moins 10 minutes

Cultures

- Ne pas ouvrir le couvercle d'une culture ou d'une suspension d'organismes passée au vortex ou agitée pendant au moins 15 minutes



**TOUJOURS OUVRIR UN ÉCHANTILLON, UNE CULTURE
OU UNE SUSPENSION D'ORGANISME DANS UNE ESB.**

Centrifugation

Si l'échantillon a été centrifugé dans un godet de sécurité avec couvercle de, le godet peut être introduit dans une ESB et ensuite immédiatement ouvert.



**LES CENTRIFUGEUSES SANS GODET ET COUVERCLE DE SÉCURITÉ
NE DOIVENT PAS ÊTRE UTILISÉES POUR LA TB**



Ouvrir les godets de sécurité au sein d'une ESB

Versement/renversement

Toute action qui fait passer un liquide d'un récipient à un autre.

Ne jamais verser une solution directement sur une autre ; cela créerait des aérosols.



EN CRÉANT DES BULLES, ON CRÉE DES AÉROSOLS

Voici quelques exemples

- Placer une solution décontaminante dans un récipient pour échantillons ou un tube de centrifugeuse
- Verser le surnageant dans un désinfectant après la centrifugation
- Mettre de l'eau stérile ou de la solution saline tamponnée au phosphate dans un échantillon décontaminé
- Diluer un inoculum de MTB pendant la préparation d'un TDS

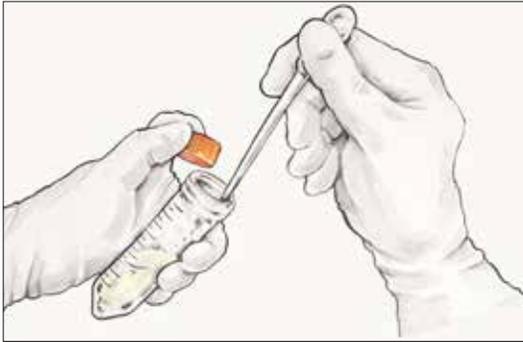


Toujours verser le liquide d'un récipient à l'autre en faisant couler le liquide le long de la paroi intérieure du récipient

Il en va de même lors de l'utilisation d'une pipette pour transférer un liquide d'un récipient à un autre



Ne jamais verser un liquide d'un récipient directement dans un autre récipient



Correct, expulser le liquide au-dessus du ménisque et sur le côté du tube



Faux, cône de la pipette sous le ménisque



Faux, expulser un liquide directement sur un autre liquide



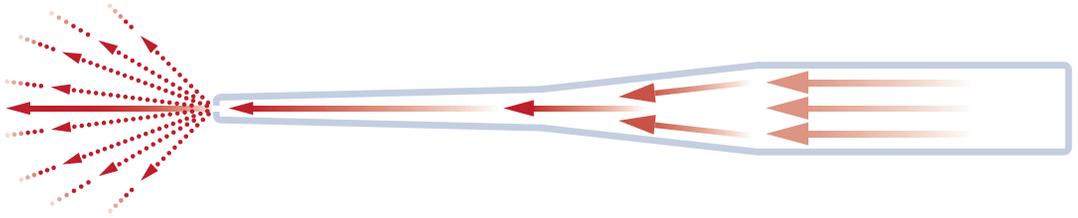
Faux, la pipette est à l'extérieur du tube



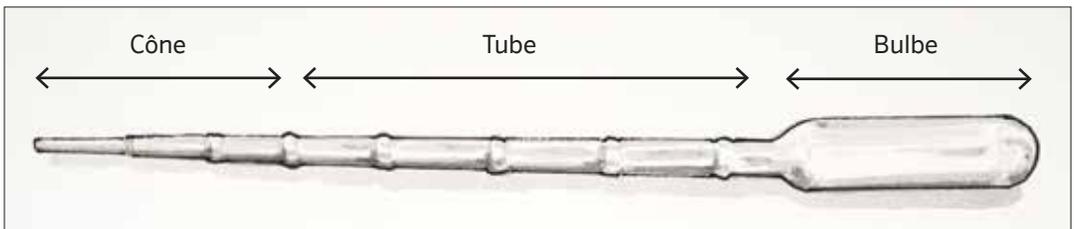
Lors du versement d'un liquide dans un récipient à déchets, utiliser un entonnoir pour augmenter la surface de la paroi intérieure afin de réduire au minimum le déversement direct du liquide dans le seau à déchets à l'intérieur de l'ESB

Pipetage

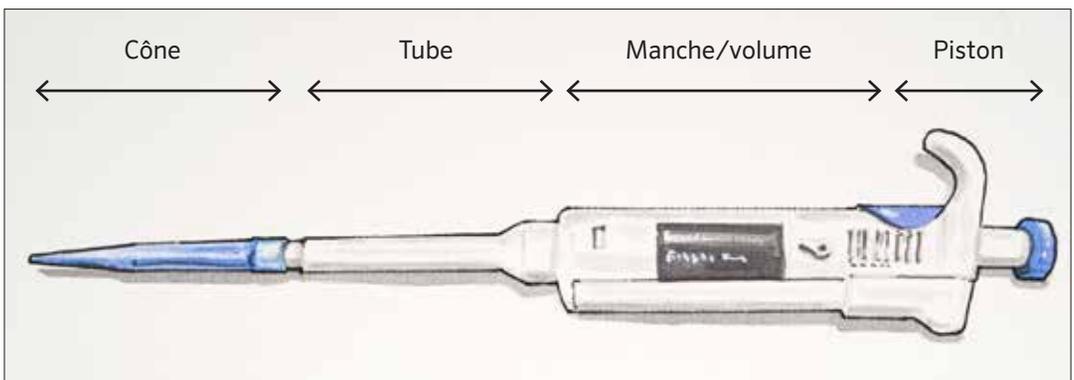
L'utilisation de pipettes (par exemple des pipettes Pasteur) ou de micropipettes crée un risque élevé de production d'aérosols.



Sous la pression de l'air provenant du bulbe d'une pipette ou du piston d'une micropipette, le déplacement du fluide à partir de l'espace de stockage ou du tube à travers le cône peut accélérer le fluide à grande vitesse, créant des aérosols.



Éléments fondamentaux d'une pipette jetable



Éléments fondamentaux d'une micropipette

Pour minimiser la création d'aérosols

- Expulser lentement le liquide de la pipette
- La diriger vers la paroi intérieure du récipient
- S'assurer que le cône de la pipette est au-dessus du ménisque

Ces principes s'appliquent à tous les types de pipettes.

Environ 20 % des infections acquises en laboratoire ont une cause évidente ; les 80 % restants sont dus principalement à la production d'aérosols créée par des pratiques de travail dangereuses. Minimiser les aérosols est une compétence essentielle que les techniciens travaillant dans les laboratoires de TB et réalisant des cultures ou des TDS doivent posséder.

Minimiser la production d'aérosols est un élément essentiel pour le bien-être du technicien de laboratoire qui réalise le travail et de ses collègues. Cela protège également le patient contre les résultats de laboratoire faussement positifs qui se produisent lorsque des aérosols contaminent d'autres échantillons, cultures, ou réactifs et consommables.



EN CRÉANT DES BULLES, ON CRÉE DES AÉROSOLS

Résumé

Comprendre comment les aérosols sont créés est la première étape pour minimiser leur production. La plupart des aérosols sont invisibles et le personnel des laboratoires ignore souvent qu'ils sont produits.

6

CAUSES DE CONTAMINATION ET PRÉVENTION

Ce chapitre décrit comment la contamination se produit et les mesures nécessaires pour la prévenir dans votre laboratoire.

	PAGE
Manipulation des récipients	86
Utilisation de pipettes et de micropipettes	88
Utiliser les données pour détecter la contamination	95
Résumé	102

Les incidents de contamination en laboratoire peuvent être dangereux pour le personnel, pour la crédibilité du laboratoire et potentiellement pour le patient.

De bonnes pratiques de travail réduisent le risque de contamination. Des programmes de qualité qui comprennent l'analyse des données peuvent permettre d'identifier une contamination insoupçonnée. En outre, l'observation régulière des pratiques de travail par les superviseurs de laboratoire permettra de corriger les pratiques dangereuses.

La contamination peut être causée par des pratiques de travail dangereuses qui permettent

- à des microorganismes environnementaux (bactéries, champignons, mycobactéries non tuberculeuses) de pénétrer dans les consommables ou les réactifs ou de souiller les surfaces des équipements ou les équipements de protection individuelle ;
- à des aérosols (provenant d'échantillons/de cultures/d'inocula) de contaminer les échantillons, cultures ou réactifs voisins.

Manipulation des récipients



Certaines zones d'un récipient ne doivent jamais être touchées, comme l'intérieur d'un récipient ou son couvercle. D'autres endroits peuvent être moins évidents, comme la zone de filetage d'un récipient.

Pendant le prélèvement des échantillons, il est possible que l'extérieur de la zone filetée (et la surface externe du tube) soit contaminé par des expectorations ; en fermant le couvercle et en ouvrant le couvercle, l'échantillon se répandra sur tout le filetage. Le problème est plus dangereux lorsque l'on travaille avec des cultures positives, en particulier des cultures liquides.



Fuite des expectorations à l'extérieur du récipient

Utiliser des gants de bonne taille est un élément essentiel. Garder les doigts gantés loin de la zone de filetage. Lors de la manipulation de tout récipient, y compris les tubes de centrifugation et de culture, le tenir au milieu, bien à l'écart de la zone de filetage ou du goulot. Lors du versement d'un récipient à l'autre, vérifier d'abord que les étiquettes correspondent, puis détourner l'étiquette du champ de vision.



L'étiquette tournée vers l'extérieur offre une vue dégagée



Doigts gantés bien éloignés de la zone de filetage et avec une vue dégagée du contenu du tube

Lors du retrait d'un couvercle d'un récipient ou d'un tube, ne jamais orienter le couvercle vers le bas. La zone de filetage peut être contaminée et une partie de l'échantillon ou de la culture peut être transférée sur la zone de travail.



Utilisation de pipettes et de micropipettes

Une contamination par une pipette ou une micropipette peut se produire de trois façons.

1 De la pipette à l'échantillon

L'utilisation d'une pipette ou d'un cône contaminé peut entraîner la contamination d'un échantillon, d'une culture ou d'un inoculum.

Pour éviter cela, il faut

- Utiliser des pipettes/cônes stériles ;
- Tenir la pipette correctement ;
- Considérer que chaque pipette ou cône est à usage unique.

2 De l'échantillon à la pipette

L'échantillon, l'inoculum ou les aérosols peuvent pénétrer dans le mécanisme interne de la micropipette ou dans le bulbe d'une pipette.

Prévenir cela en utilisant des pipettes ou des cônes munis de filtres pour empêcher les liquides/aérosols de quitter l'extrémité de la pipette ou du cône.

3 D'un échantillon à un autre (contamination par transfert)

Ce type de contamination se produit lors de la répartition de l'échantillon ou de l'inoculum. Le transfert se produit lorsqu'une partie de l'échantillon/inoculum reste attachée à l'intérieur de la pipette ou du cône sous forme de gouttelettes.

La même pipette ou le même cône est ensuite utilisé pour manipuler un autre échantillon/inoculum.

Prévenir la contamination par transfert en remplaçant la pipette ou le cône après l'avoir inséré dans un liquide potentiellement non stérile.

Pipettes

Il est recommandé d'utiliser des pipettes jetables en plastique à usage unique.

Les pipettes à bulbe moulées d'une seule pièce sont les meilleures. Les bulbes doivent faire partie de la pipette, de sorte qu'un bulbe séparé ne soit pas nécessaire. Les pipettes jetables en plastique peuvent être emballées individuellement ou dans des sacs. Une fois ouvert, refermer le sac lorsqu'il n'est pas utilisé.

Les pipettes Pasteur en verre ne sont pas recommandées car elles se cassent facilement, ce qui crée des bords tranchants. Elles nécessitent l'utilisation d'un bulbe séparé qui peut être contaminé, entraînant des phénomènes de contamination croisée.

Il est essentiel de tenir correctement une pipette pour s'assurer que le liquide est délivré en toute sécurité dans un récipient.



Tenir la pipette avec le pouce et l'index, en utilisant le majeur pour la guider

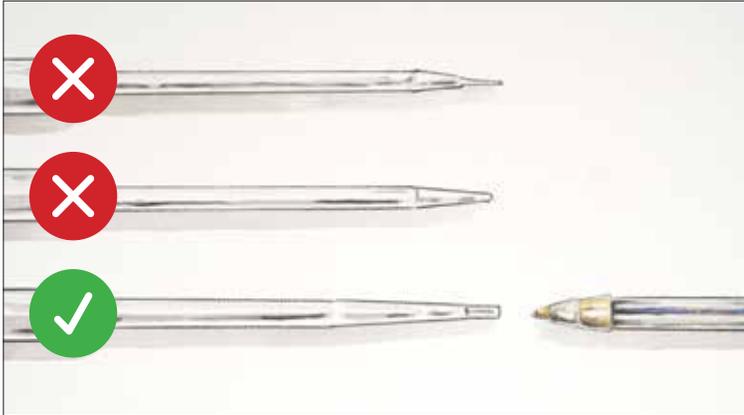


Mauvais contrôle de la pipette



NE JAMAIS TOUCHER LE CÔNE D'UNE PIPETTE OU D'UNE MICROPIPETTE

Pour l'inoculation de milieux solides et liquides, les micropipettes ne doivent pas être utilisées car la très petite ouverture du cône peut se boucher, ce qui risque d'expulser le cône de la pipette et de créer un déversement infectieux dans l'ESB. Utiliser une pipette graduée stérile en plastique pour inoculer les échantillons décontaminés sur le milieu, car l'ouverture du cône est beaucoup plus grande et permet le passage du contenu.



Utiliser des pipettes avec un cône à large ouverture pour l'inoculation des milieux

Après avoir transféré le liquide de la pipette, la mettre directement dans un récipient à jeter contenant du désinfectant.



Ne pas utiliser de pipettes en verre dans le laboratoire de TB.

S'il n'y a pas d'alternative, les extrémités doivent être bouchées avec du coton.

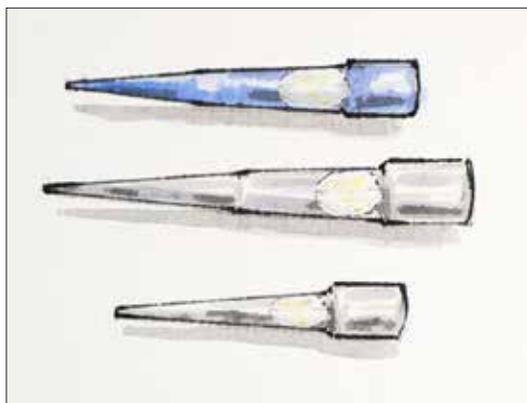


Bouchon d'ouate entièrement inséré

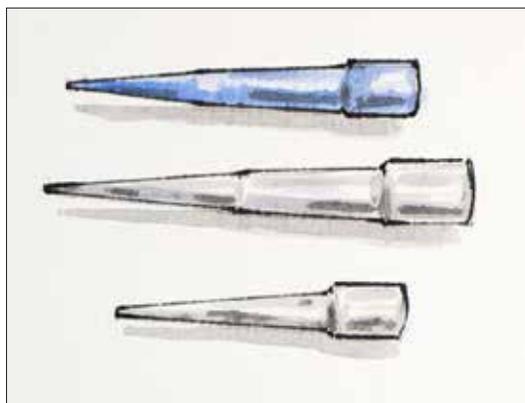
Micropipettes

Les micropipettes sont des instruments de précision permettant de recueillir et de distribuer des liquides à l'aide de cônes en plastique stériles jetables. Ils ne doivent être utilisés que pour des solutions non visqueuses.

La forme et la taille du cône jetable dépendent du volume recueilli, ainsi que de la forme et de la taille du récipient contenant le liquide.



Cônes de micropipette filtrants



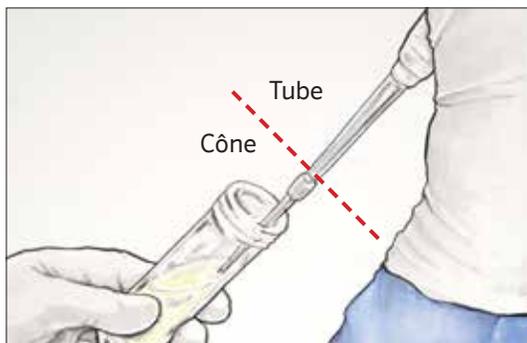
Cônes de micropipette non filtrants

Les cônes filtrants offrent une protection efficace contre la contamination des micropipettes. Ils empêchent les aérosols ou les liquides contenant des microorganismes de pénétrer dans le mécanisme interne du tube.

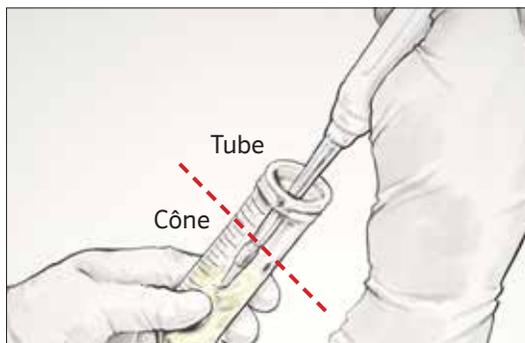
Veiller toujours à ce que le cône soit placé dans un récipient et au-dessus du ménisque, avant de libérer lentement le contenu. Ne jamais insérer le tube dans le récipient.



INSÉRER UNIQUEMENT LE CÔNE JETABLE DANS UN RÉCIPIENT, JAMAIS LE TUBE



Insérer uniquement le cône



Ne jamais insérer le tube dans le récipient

Le diamètre intérieur du cône d'une micropipette est étroit (<1 mm de diamètre) et les échantillons traités ne sont souvent pas de consistance homogène et contiennent des portions >1 mm. Forcer un échantillon traité à travers un cône de micropipette bloquera le cône et créera une contre-pression suffisante pour expulser le cône du tube, créant ainsi des aérosols infectieux et un déversement.



NE PAS UTILISER DE MICROPIPETTES POUR INOCULER LES ÉCHANTILLONS TRAITÉS DANS LES MILIEUX

Quand utiliser une micropipette

Pour la culture, une micropipette ne doit être utilisée que pour

- Ajouter 800 µl du supplément PANTA dans un tube MGIT

Pour les TDS, une micropipette ne doit être utilisée que pour

- Préparer la dilution de l'inoculum ;
- Ajouter une solution médicamenteuse à un tube MGIT ;
- Ajouter de l'inoculum dans un tube MGIT ou sur un support solide.

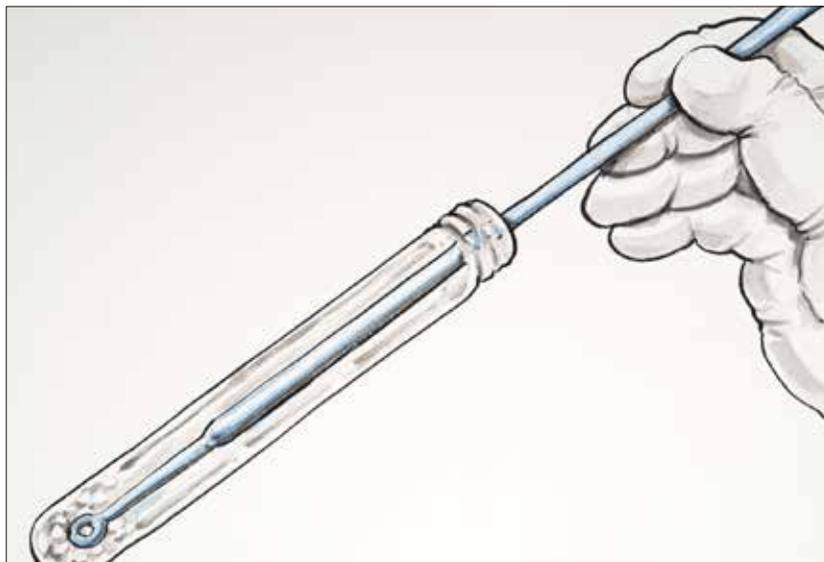
Anses bactériologiques

Utilisé dans la préparation des frottis d'expectoration et pour la manipulation des isolats.

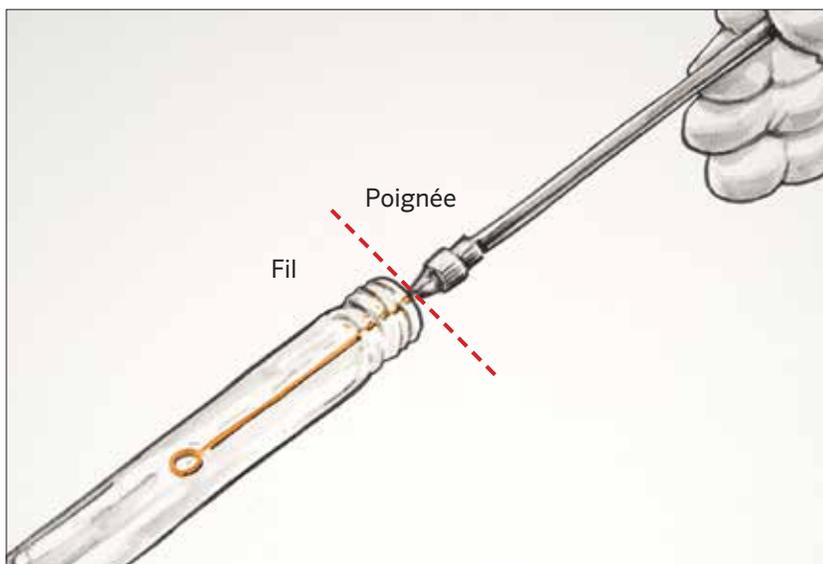
Deux types sont disponibles : les anses en plastique à usage unique et les anses réutilisables.

Anses réutilisables stérilisées dans un incinérateur électrique entre chaque utilisation

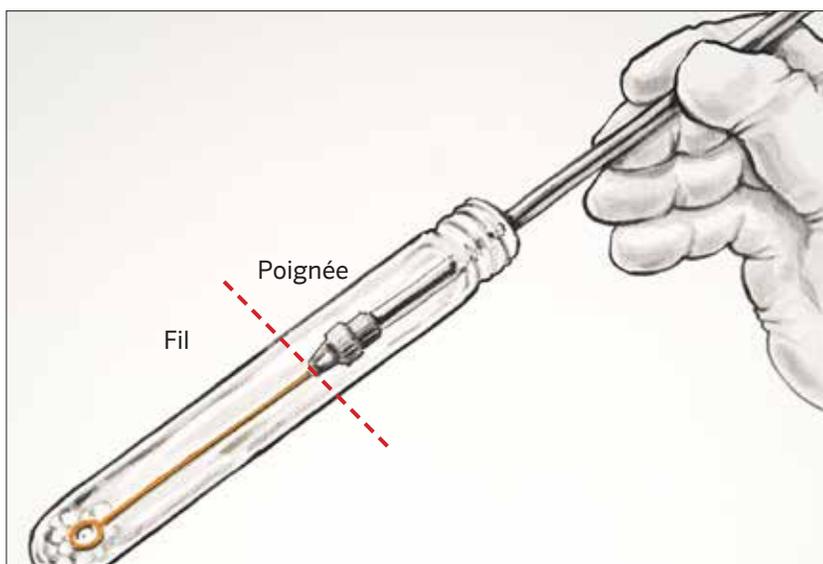
- Le fil peut être chauffé, mais pas la poignée



Anses en plastiques à usage unique - fortement recommandées. L'insertion de la poignée d'une anse jetable est acceptable car elle sera jetée immédiatement après usage



Insérer uniquement le fil dans un tube



Ne jamais insérer la poignée
Faire correspondre la taille du tube à la longueur du fil



Incinérateur électrique

Le fait de ne pas stériliser correctement le fil ou de placer la poignée de la boucle bactériologique dans le récipient peut entraîner une contamination.

Si les anses jetables sont temporairement indisponibles, une alternative consiste à utiliser un coton-tige humidifié et stérile pour préparer l'inoculum.

Utiliser les données pour détecter une contamination

L'examen des données de laboratoire offre une occasion précieuse d'identifier un cas de contamination qui n'aurait pas été détecté autrement.

Ces organismes peuvent provenir directement d'un échantillon, d'une mauvaise manipulation d'une culture positive, ou de réactifs contaminés, de consommables tels que des pipettes ou des équipements.

Contamination croisée des cultures

Causée par le MTB

Exemple : Un frottis positif devient une culture positive en une semaine. Plusieurs échantillons ultérieurs sont négatifs par frottis mais deviennent positifs en culture, ce qui nécessite généralement un temps d'incubation plus long avant de signaler un résultat positif (tableau 6.1).

- NRL 243 : Un échantillon positif avec un degré égal à 3+ pour les BAAR signale la présence de MTB après une semaine (1S) d'incubation - vrai positif
- NRL 244 à 248 donnent tous des frottis négatifs et donnent des cultures positives après quatre à cinq semaines
 - Contamination probable
 - Tous donnent des frottis négatifs mais des cultures positives à quatre-cinq semaines
 - Tous suivent directement après un frottis positif avec un degré 3+

Table 6.1 Contamination croisée des cultures par le MTB

NRL	Date	Nom	Âge/sexe	Dx/FU	Frottis	Culture	Commentaires
236					Nég	N6S	
237					Nég	N6S	
238					Nég	N6S	
239					Nég	N6S	
240					Nég	N6S	
241					Nég	N6S	
242					Nég	N6S	
243					3+	MTB1S	vrai positif
244					Nég	MTB4S	contamination probable
245					Nég	MTB4S	contamination probable
246					Nég	MTB5S	contamination probable
247					Nég	MTB5S	contamination probable
248					Nég	MTB5S	contamination probable
249					Nég	N6S	
250					Nég	N6S	

Remarques

- **N6S** – Aucune croissance (N) après 6 semaines (6S) d'incubation
- **MTB1S** – Croissance de MTB après une semaine (1S) d'incubation

Cause possible	Solutions possibles
Aérosols libérés dans l'ESB <ul style="list-style-type: none"> Ouverture d'un tube de centrifugeuse immédiatement après le vortexage ou l'agitation pour mélanger le décontaminant avec l'échantillon ou pour remettre le sédiment en suspension après la centrifugation 	Ne pas ouvrir un échantillon passé au vortex ou agité ou un sédiment centrifugé pendant au moins 10 minutes
La contamination des réactifs s'est produite à partir du NRL 243 <ul style="list-style-type: none"> Le réactif était terminé après le traitement du NRL 248 	N'utiliser que de petits volumes de réactifs ; une limite de 5 à 10 volumes est recommandée

Dans l'exemple ci-dessus, si la contamination croisée n'est pas identifiée, les patients 244 à 248 peuvent recevoir un faux diagnostic de TB et être traités inutilement.

En cas de contamination croisée par MTB, il est important que le personnel-cadre discute des résultats avec les cliniciens afin de déterminer si les résultats de laboratoire sont conformes à la présentation clinique ou à l'évolution clinique.

Causée par des microorganismes non mycobactériens

Exemple : Les échantillons NRL 243 à 251 sont tous contaminés (tableau 6.2).

Tableau 6.2 Contamination croisée des cultures par des microorganismes non mycobactériens

NRL	Date	Nom	Âge/sexe	Dx/FU	Frottis	Culture	Commentaires
238					Nég	N6S	
239					Nég	N6S	
240					Nég	N6S	
241					Nég	N6S	
242					Neg	CMR1S	
243					3+	CMR3S	contamination probable
244					Nég	CMR3S	contamination probable
245					Nég	CMR3S	contamination probable
246					Nég	CMR3S	contamination probable
247					Nég	CMR3S	contamination probable
248					Nég	CMR3S	contamination probable
249					Nég	CMR3S	contamination probable
250					Nég	CMR3S	contamination probable
251					Nég	CMR3S	contamination probable

Remarques

- N6S** – Aucune croissance (N) après 6 semaines (6S) d'incubation
- CMR3S** – Cultures mises au rebut (CMR) après trois (3) semaines d'incubation

Cause possible	Solutions possibles
Aérosols libérés dans l'ESB <ul style="list-style-type: none"> • Ouverture d'un tube de centrifugeuse immédiatement après le vortexage ou l'agitation pour mélanger le décontaminant avec l'échantillon ou pour remettre le sédiment en suspension après la centrifugation 	Ne pas ouvrir un échantillon passé au vortex ou agité ou un sédiment centrifugé pendant au moins 10 minutes
Un flacon de réactif ouvert au début du traitement est contaminé par l'échantillon NRL 242 et contamine ensuite tous les autres échantillons en cours de traitement <ul style="list-style-type: none"> • Montre l'importance d'utiliser de petits volumes de réactifs 	N'utiliser que de petits volumes de réactifs ; une limite de 5 à 10 volumes est recommandée
Un nouveau flacon de réactif (contaminé) est ouvert et utilisé à partir du NRL 242	Toujours vérifier que les réactifs non utilisés ne présentent pas de turbidité évidente ou de croissance fongique



Étant donné que les contaminants se développent plus rapidement que le MTB, il faut noter que l'échantillon donnant un frottis positif avec un degré 3+ était également contaminé. Un tel résultat retarde le diagnostic et ralentit l'obtention de résultats pour les TDS.

Des échantillons provenant d'autres patients ont également été contaminés et ont dû être jetés, ce qui a retardé le diagnostic, nécessité la répétition des tests ou la recherche d'un diagnostic différentiel.

Indicateurs de qualité pour la culture

Ces indicateurs de qualité (tableau 6.3) sont recommandés pour la culture et doivent être recueillis et analysés sur une base mensuelle. Les indicateurs doivent être recueillis par type de milieu de culture si plus d'un type est utilisé, et également par type d'échantillon si le laboratoire traite une gamme d'échantillons.

Table 6.3 Indicateurs de qualité pour la culture

Indicateur	Description	Cible
Nombre et proportion des échantillons de diagnostic (nouveaux et rechutes) qui étaient positifs au CMTB	Nombre d'échantillons de diagnostic donnant une culture positive au CMTB/ Nombre d'échantillons de diagnostic traités pour la culture	10 à 15 %
Nombre et proportion des échantillons de diagnostic donnant des frottis positifs pour les BAAR (nouveaux et rechutes) dont la culture était positive au CMTB	Nombre d'échantillons de frottis positifs pour les BAAR donnant une culture positive au CMTB/Nombre d'échantillons de frottis positifs traités pour la culture	95 à 98 % (liquide) 85 à 90 % (solide)
Nombre et proportion des échantillons de diagnostic donnant des frottis négatifs pour les BAAR dont la culture était positive au CMTB	Nombre d'échantillons de frottis négatifs pour les BAAR dont la culture était positive pour la MTBC/Nombre de tous les échantillons, quel que soit le résultat du frottis, donnant une culture positive pour le CMTB	20 à 30 % (liquide) 10 à 20 % (solide)
Nombre et proportion de cultures contaminées conduisant à des résultats non interprétables	Nombre de tubes ou de plaques de culture inoculés jetés pour cause de contamination/Nombre total de tubes ou de boîtes inoculés pour la culture	3 à 5 % (solide) 8 à 10 % (liquide)

Contamination croisée des TDS

Pendant les TDS

La contamination croisée peut se produire lorsqu'un MTB sensible au médicament est inoculé dans une autre culture ou une dilution de culture. Ce type de contamination croisée est presque impossible à détecter car il n'y a pas de preuve de son existence. La contamination croisée de MTB sensible au médicament par un autre MTB sensible au médicament sera « invisible » car elle sera inactivée par les médicaments anti-TB spécifiques.

En revanche, la contamination causée par un organisme de tuberculose résistant aux médicaments est plus facilement détectée.
(tableau 6.4)

Tableau 6.4 Contamination croisée lors de tests de sensibilité aux médicaments en raison de la présence de MTB résistant aux médicaments

NRL	Date	Nom	Âge/sexe	STR	INH	RIF	EMB	Commentaire
270	12/12/2018			S	S	S	S	
275	12/12/2018			S	S	S	S	
279	12/12/2018			S	S	S	S	
285	12/12/2018			S	R	S	S	
290	16/12/2018			R	R	R	S	résultat vrai
296	16/12/2018			R	R	R	S	contamination probable
303	16/12/2018			R	R	R	S	contamination probable
311	16/12/2018			R	R	R	S	contamination probable
315	16/12/2018			R	R	R	S	contamination probable
326	16/12/2018			R	R	R	S	contamination probable
333	16/12/2018			R	R	R	S	contamination probable
252	18/12/2018			S	S	S	S	résultat vrai
253	18/12/2018			S	S	S	S	résultat vrai

Remarques

- La contamination croisée lors du TDS s'est produite en un seul jour (16/12/2018)
- Un profil de TDS peu commun (résistance à la S/H/R) favorise la contamination croisée
- Si le génotypage est disponible, les isolats 290-333 doivent être testés pour déterminer s'ils ont le même profil

Cause possible	Mesures correctives
Aérosols libérés dans l'environnement de l'ESB <ul style="list-style-type: none"> • Ouverture d'un tube immédiatement après le vortexage • Agitation d'une culture positive pour préparer un inoculum de TDS 	Ne pas ouvrir une culture passée au vortex ou agitée pendant au moins 15 minutes
Un réactif contaminé par des aérosols provenant du NRL 290 a été utilisé pendant le reste de la journée	Utiliser de faible volume de réactifs
Un réactif a été contaminé par un cône de pipette ou un autre consommable entrant en contact avec une culture positive	Utiliser toujours une bonne technique de pipetage et des récipients de taille appropriée par rapport à la longueur de la pointe
Si une contamination croisée lors de TDS se produit pendant plusieurs jours, vérifier si des réactifs ont été utilisés pendant plusieurs jours	Jeter tous les réactifs utilisés de manière incomplète après chaque cycle de TDS



Dans l'exemple ci-dessus, si la contamination croisée n'est pas identifiée, les patients 296 à 333 peuvent être faussement diagnostiqués comme atteints de TB-MR et traités selon un schéma thérapeutique plus toxique, moins efficace et de plus longue durée. Le résultat peut être catastrophique sur le plan financier pour les patients et leurs familles.



Évaluation d'un résultat de résistance aux médicaments

Il faut faire preuve de prudence chaque fois qu'un résultat de résistance aux médicaments est observé. Dans le TDS-MGIT, les tubes de TDS contaminés donnent généralement, mais pas toujours, un résultat dans les quatre jours et l'appareil MGIT déclare le résultat non valide. Certains microorganismes non mycobactériens prendront plus de quatre jours et donneront donc un résultat de TDS.

Chaque fois qu'un résultat de résistance aux médicaments est obtenu, et surtout lorsque tous les médicaments anti-TB testés donnent un résultat de résistance, il faut

- Veiller à ce que le milieu de culture liquide MGIT soit clair
 - De petits granulés blancs sur le fond du tube sont courants
 - En cas de turbidité, préparer deux frottis, l'un pour la coloration ZN, l'autre pour la coloration de Gram
- Discuter avec le superviseur du laboratoire
 - Mettre en place une gélose au sang ou une plaque de gélose nutritive pour vérifier la croissance des microorganismes non mycobactériens
- En cas de résistance à la rifampicine (RIF), préparer une dilution au 1:100 du milieu de culture liquide du tube RIF
 - Effectuer un test GeneXpert ou LPA pour confirmer la résistance à la RIF
 - Si le séquençage du gène *rpoB* est possible, entreprendre une analyse urgente de la séquence
- Informer le clinicien des résultats et lui indiquer que le TDS sera répété ou que l'isolat sera envoyé à un laboratoire de niveau supérieur pour un TDS de deuxième ligne

Indicateurs de qualité pour le TDS phénotypique

Ces indicateurs (tableau 6.5) doivent être recueillis et analysés sur une base mensuelle. D'autres indicateurs secondaires, tels que le nombre et la proportion de profils de résistance aux médicaments inhabituels, peuvent être recueillis sur une base moins fréquente (par exemple, trimestrielle). Cependant, il faut toujours se tenir au courant des résultats du TDS et faire preuve de prudence lorsque des regroupements de profils de TDS inhabituels sont enregistrés.



Évaluation des pratiques de travail

Le personnel de supervision des laboratoires est responsable de la formation du personnel subalterne aux procédures opérationnelles standard correctes, à l'assurance qualité et aux pratiques de travail en toute sécurité. Une fois la formation terminée, les superviseurs doivent contrôler régulièrement les pratiques de travail, en particulier celles du personnel qui vient de terminer sa formation.

Tenue de registres

Le recueil et l'analyse des données de laboratoire, y compris les pratiques de travail et les indicateurs de qualité, doivent faire partie de tout système de gestion de la qualité des laboratoires.

Tableau 6.5 Indicateurs de qualité pour les tests phénotypiques de pharmacosensibilité

Indicateur	Description	Cible
Nombre et proportion de monorésistances et de multirésistances à toutes les combinaisons de médicaments testées (par exemple, monorésistance à l'INH, monorésistance à la RIF, MR)	Nombre d'isolats résistants à une ou plusieurs combinaisons de médicaments/Nombre total d'isolats testés	En fonction de la population testée et de la prévalence et des schémas de résistance aux médicaments observés dans le pays
Nombre et proportion d'isolats inoculés pour le TDS qui ont été rejetés pour cause de contamination	Nombre d'isolats rejetés pour cause de contamination/ Nombre total d'isolats inoculés pour le TDS	<3 %
Nombre et proportion d'isolats inoculés pour les TDS qui n'étaient pas interprétables en raison de l'absence de croissance dans les tubes/boîtes de contrôle (sans médicament)	Nombre d'isolats rejetés en raison du manque de croissance sur des milieux non médicamenteux/ Nombre total d'isolats inoculés pour les TDS	<3 %
Temps de traitement (TT) des laboratoires	Délai entre l'inoculation et le TDS et la communication des résultats (moyenne, fourchette et 90e centile). Pour le TT total DST, ajouter cette valeur au TT de la culture	Milieux solides : 8 à 16 semaines Milieux liquides : 4 à 6 semaines

Résumé

Les échantillons ou les cultures contaminés par des microorganismes environnementaux peuvent entraîner des retards de diagnostic. Les échantillons ou cultures contaminés par le MTB sont beaucoup plus préoccupants. Les patients peuvent recevoir des résultats faussement positifs entraînant un traitement continu inutile ou prolongé ou peuvent être faussement diagnostiqués comme étant atteints de TB-MR/UR, un événement potentiellement catastrophique pour le patient et sa famille.

7

RÉCIPIENTS ET RÉACTIFS

La façon d'utiliser les récipients et de gérer les réactifs réduit le risque de contamination croisée.

Le terme récipient comprend des équipements tels que des tubes, des flacons, des fioles et des pipettes de tous types.

	PAGE
Récipients pour liquides	104
Autres types de récipients	108
Réactifs	109
Résumé	110

Réipients pour liquides

Les réipients doivent être « adaptés à leur utilisation ».

Les principales caractéristiques sont les suivantes

- Des couvercles et des bouchons qui réduisent le risque d'aérosolisation
- Becs verseurs pour un versement précis
- Une taille adaptée
- Réutilisation ou usage unique
- Verre ou plastique

Couvercles et bouchons

Utiliser des couvercles à vis et étanches pour tous les réactifs liquides.

Les fermetures à clapet ne sont pas recommandées car elles peuvent pulvériser des aérosols lors de leur ouverture ou leur fermeture.



Bouchon à vis



Fermeture à clapet



Fermetures inadaptées - coton, coton ciré, caoutchouc

Ne **pas** utiliser des bouchons en coton, en coton ciré ou en caoutchouc pour les cultures ou les réactifs.

Le bec verseur

Les récipients à bord « tranchant » et non à bord arrondi réduisent le risque de déversement incontrôlé.



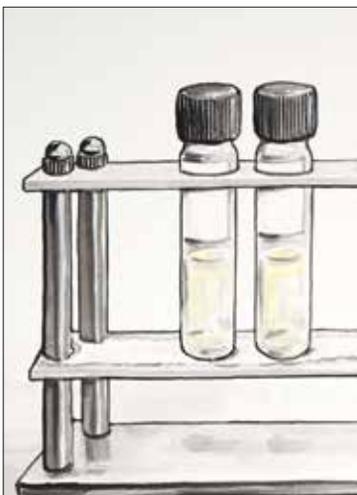


Les tubes de centrifugeuse ont des rebords adaptés pour verser les réactifs

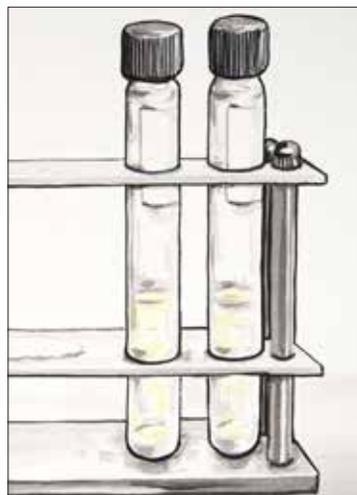
Taille

Prendre en compte la taille, la forme et la structure des récipients ainsi que la méthode de transfert des réactifs vers ou depuis un récipient.

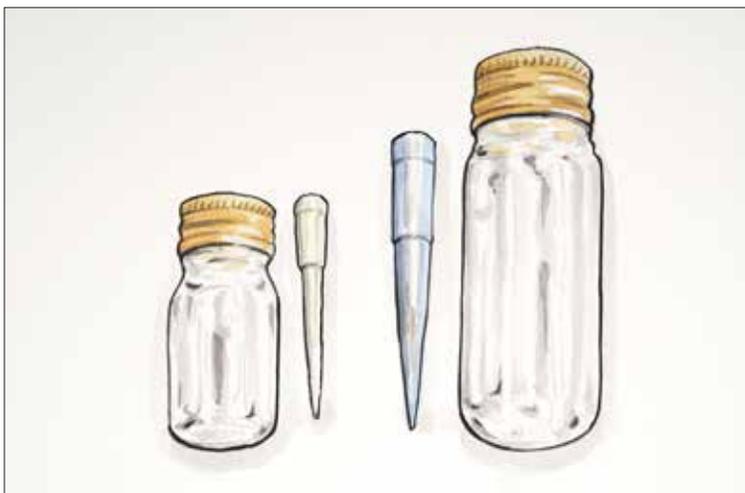
- Le verre ou le plastique transparent permet de voir le réactif, et aide à bien positionner un cône de pipette ou une anse bactériologique
- Le goulot du récipient est suffisamment large pour permettre de verser ou de recevoir des réactifs liquides ou des pipettes
- Les récipients doivent être suffisamment grands pour contenir une quantité suffisante de réactifs et pour permettre aux cônes des micropipettes de recueillir les réactifs
 - Ne jamais insérer le tube d'une micropipette dans un récipient



Les récipients avec un goulot court sont adaptés



Les récipients avec un goulot long sont inadaptés



Faire correspondre la taille du récipient avec la longueur du tube de la micropipette

Réutilisation ou usage unique

Des récipients à usage unique doivent être utilisés dans la mesure du possible. Une fois utilisés, les récipients doivent être jetés pour éliminer le risque de contamination croisée.

Les récipients réutilisables, tels que les flacons de McCartney (pour la culture en milieu solide), doivent être suffisamment solides pour être passés à l'autoclave, désinfectés, lavés et reconditionnés plusieurs fois.



LES RÉCIPIENTS ENDOMMAGÉS DOIVENT ÊTRE JETÉS

Récipients en verre ou en plastique

Un récipient en verre peut être réutilisé, mais pas un récipient en plastique. Le choix d'un récipient en plastique ou en verre sera déterminé par son utilisation.

Plastique

Utilisé couramment pour

- Les récipients pour échantillons ;
- La centrifugation ;
- De petits volumes de réactifs (<100 ml).

Verre

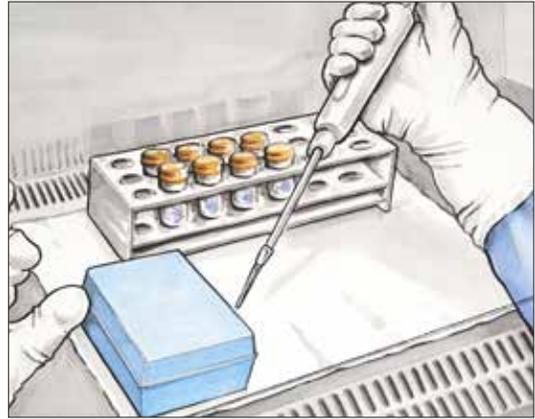
Utilisé couramment pour

- Les tubes avec bouchons à vis (par exemple les flacons de McCartney) pour les milieux solides ;
- De grands volumes de réactifs (>100 ml) ;
- Peut être réutilisé.

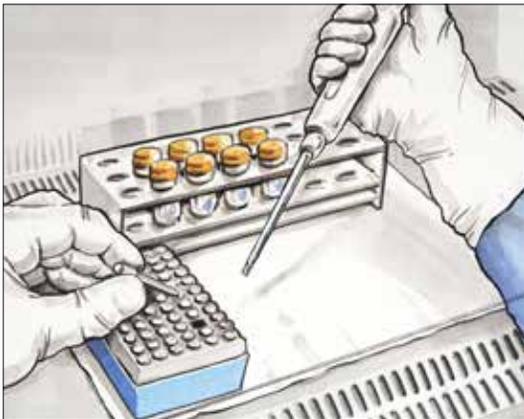
Autres types de récipients

Les équipements à usage unique tels que les cônes de micropipettes présentent un risque majeur de contamination s'ils ne sont pas utilisés correctement.

Toujours mettre le couvercle sur un récipient contenant des cônes s'ils ne sont pas retirés.



Ouvrir la boîte pour sélectionner un cône, puis fermer le couvercle



Risque de contamination - ne jamais toucher les cônes non utilisés avec les doigts ou de l'équipement

Réactifs



Le nombre d'échantillons traités chaque jour déterminera vos volumes de réactifs.

Pour réduire au minimum le risque de contamination pendant l'utilisation, il convient de tenir compte des éléments suivants

- Étiquetage
- Exigences en matière de volume de réactifs
- Charge de travail
- Gestion des réactifs non utilisés

Étiquetage

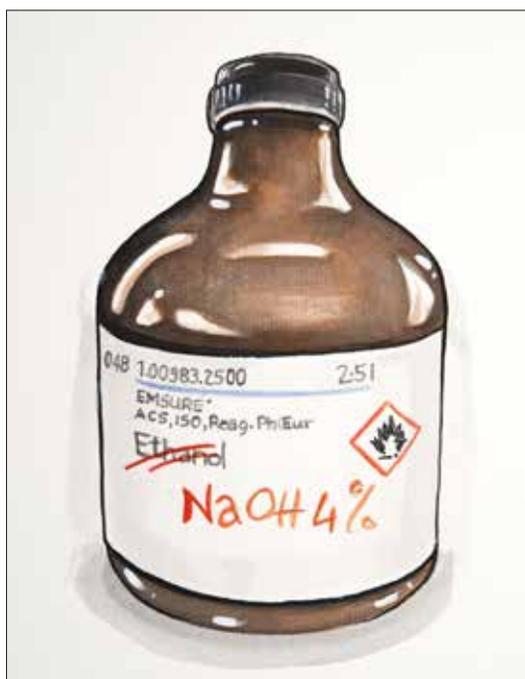
Un étiquetage clair est essentiel pour donner à l'utilisateur l'assurance que les réactifs sont adaptés à l'usage.

L'étiquette doit comporter

- Nom du réactif
- Quand il a été fait
- Qui l'a fait
- Date d'expiration
- Numéro de lot
- Conditions spécifiques de stockage



Utiliser de nouvelles étiquettes



Ne jamais effacer ou modifier une étiquette existante

Volumes de réactifs

Une contamination croisée peut se produire lorsqu'on utilise le volume d'un réactif pour traiter plusieurs échantillons. Plus le nombre d'accès à un réactif est élevé, plus la probabilité de contamination croisée est grande.

La réduction du nombre d'accès au réactif limite le nombre d'échantillons pouvant être affectés en cas de contamination croisée. Une limite de 5 à 10 volumes est recommandée. Un volume maximum de 250 ml est recommandé pour tout volume de réactif de travail. Les volumes plus importants deviennent ingérables et difficiles à verser ou à manipuler correctement.

Réactif/échantillon	Volume standard habituel requis (ml)	Volume maximal recommandé (ml)
Décontaminant	<5	50
PBS ou eau distillée stérile pour l'étape de neutralisation/ tube de centrifugeuse	≤45	250
PBS pour la remise en suspension du dépôt centrifugé	≤2	20

Certains laboratoires disposeront de 50 ml d'eau stérile (ou PBS) dans un tube Falcon à utiliser pour un seul échantillon décontaminé.

- Stratégie la plus efficace mais aussi la plus coûteuse



Adapter le volume de réactifs à la charge de travail quotidienne

Charge de travail

Sur la base du nombre moyen d'échantillons traités chaque jour, calculer le volume de chaque réactif utilisé et l'utiliser comme volume maximal de réactif (plus 10 % de réserve). Ne pas dépasser le volume de 250 ml. Les laboratoires à très haut volume devraient utiliser ces principes comme guide pour leurs pratiques de travail.



Gestion des réactifs partiellement utilisés

Une fois le traitement terminé, jeter tous les réactifs partiellement utilisés.

Résumé

Acheter des récipients en fonction de leur utilisation et non seulement en fonction du prix.

8

UTILISER LE MATÉRIEL EN TOUTE SÉCURITÉ

Ce chapitre propose une approche pratique de l'utilisation et de l'entretien des équipements de laboratoire. Les équipements de laboratoire sont coûteux et doivent fonctionner, une fois achetés, de manière fiable et pendant une longue période. L'équipement doit être « adapté à l'usage » et utilisé correctement pour éviter tout dommage.

	PAGE
Centrifugeuses	112
Incubateurs	121
Vortex	125
Portoirs	127
Micropipettes	129
Objets tranchants	130
Résumé	130

Le manque d'entretien des équipements et une utilisation non sécurisée entraîne un risque pour le personnel de laboratoire, en raison de la production d'aérosols ou de blessures physiques, et pour les patients en générant de faux résultats.

C'est une bonne pratique de faire enregistrer l'équipement dans le système du vendeur et/ou d'être enregistré en tant que client. Le vendeur fournit des informations sur les mises à jour des équipements ou des informations essentielles sur les questions de qualité, telles que des conseils sur un défaut de fabrication.

Pour tout équipement, conserver une copie des instructions du fabricant dans le laboratoire.



TOUJOURS LIRE ET SUIVRE LES INSTRUCTIONS DU FABRICANT

Centrifugeuses



Les centrifugeuses produisant des aérosols, il est obligatoire que les échantillons soient contenus dans des godets de sécurité fermés hermétiquement.



La centrifugeuse doit pouvoir atteindre et maintenir une FCR (force centrifuge relative) de 3040 pendant 15 à 20 minutes pour sédimenter la majorité des bacilles acido-alcool-résistants

FCR contre RPM

Les rotations par minute (RPM) et la FCR sont deux choses différentes. La FCR est utilisée pour spécifier les paramètres de la centrifugeuse.

La FCR est déterminée d'après les RPM et le rayon de la centrifugeuse.

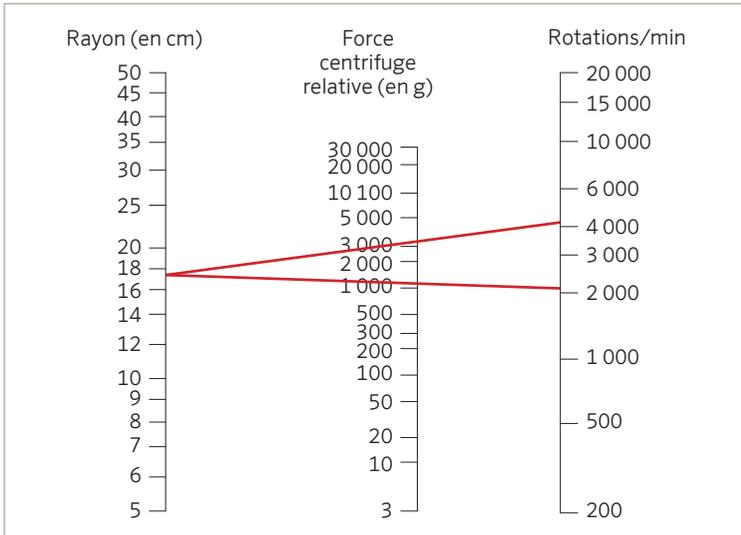
Par exemple, une centrifugeuse de 17 cm de rayon à

- 2000 RPM produisent une FCR de 760 : <50 % des BAAR sédimentés
- 4000 RPM produisent une FCR de 3040 : >95 % des BAAR sédimentés

La FCR peut être calculée à l'aide de la formule :

$$1,118 \times 10^{-5} \times \text{rayon}_{(\text{max} - \text{cm})} \times \text{RPM}^2$$

Pour une valeur de RPM donnée, la FCR augmente de façon non linéaire avec le rayon.



RPM 4000



FCR >3040<

L'utilisation de centrifugeuses réfrigérées doit être envisagée dans des environnements chauds, ou lorsque plusieurs centrifugations sont effectuées chaque jour.

- Le bacille de la TB peut être tué s'il est exposé à des températures supérieures à 38 °C, même pendant une courte période
- Régler une centrifugeuse réfrigérée à une température allant de 10 à 15 °C

En cas d'utilisation d'une centrifugeuse réfrigérée

- Allumer au moins 30 minutes avant l'utilisation
- Conserver les godets à l'intérieur de la centrifugeuse pendant la période de refroidissement

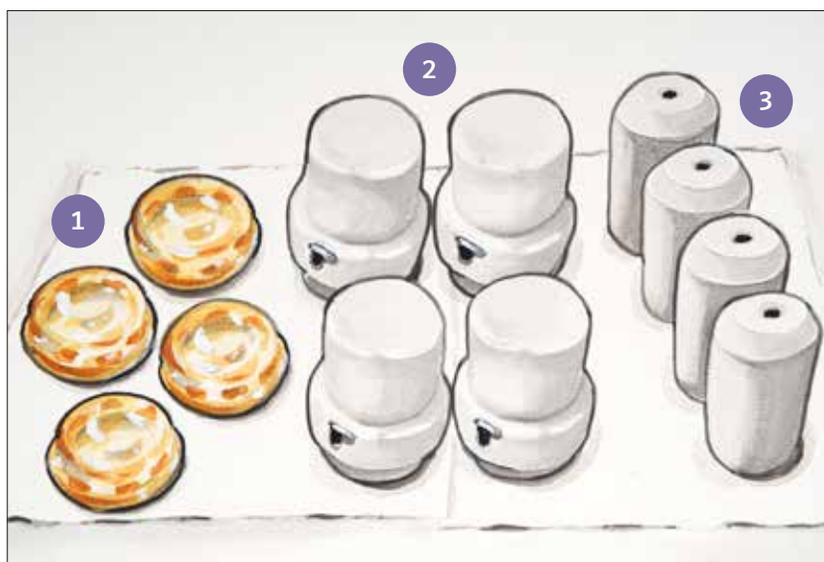


N'UTILISER QUE LES PIÈCES DE LA CENTRIFUGEUSE RECOMMANDÉES PAR LE FABRICANT



Godets de sécurité

Ils sont obligatoires lorsque la centrifugeuse est utilisée pour la culture du bacille tuberculeux.



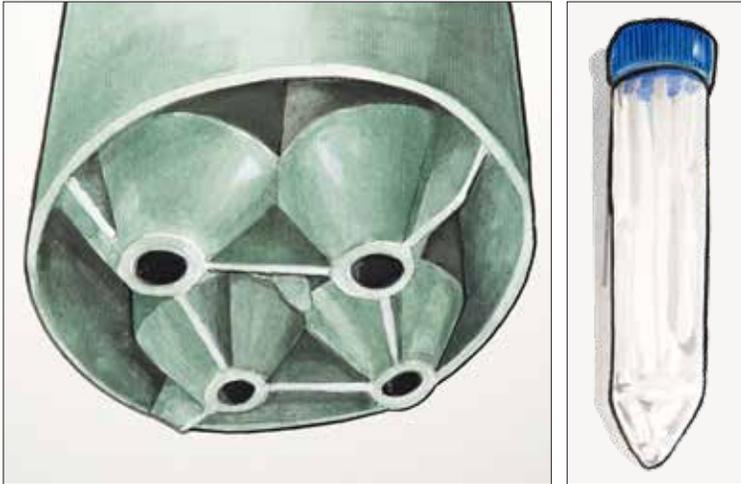
Chaque fabricant produit des pièces pour les godets de sécurité spécifiquement pour ses centrifugeuses

- 1 Couvercle
- 2 Godet
- 3 Insert

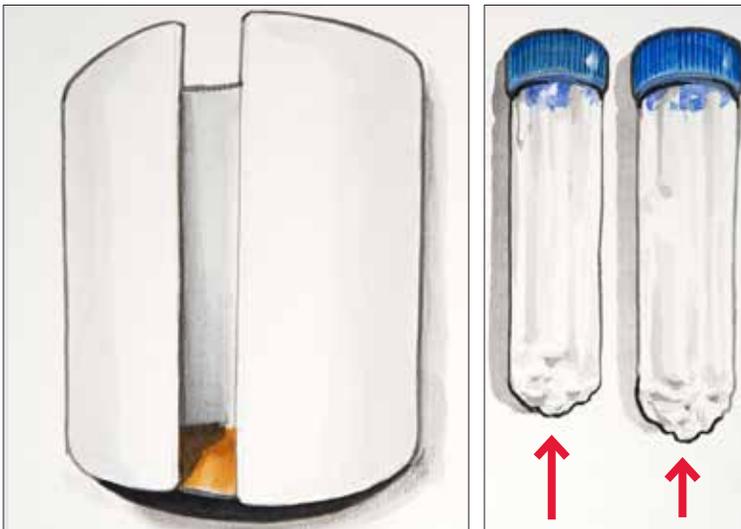
Inserts

Des inserts placés dans les godets maintiennent les tubes en place pendant la centrifugation. Il est essentiel que la forme de l'insert corresponde à la forme du fond du tube passé à la centrifugeuse.

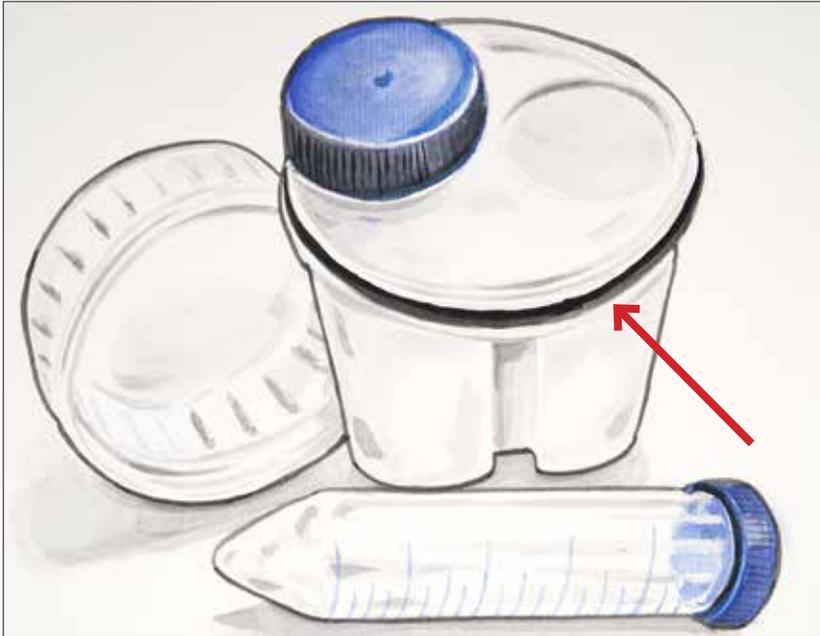
Par exemple, un insert à fond plat endommagera des tubes en forme de V, risquant de fissurer le plastique et de répandre le contenu du tube.



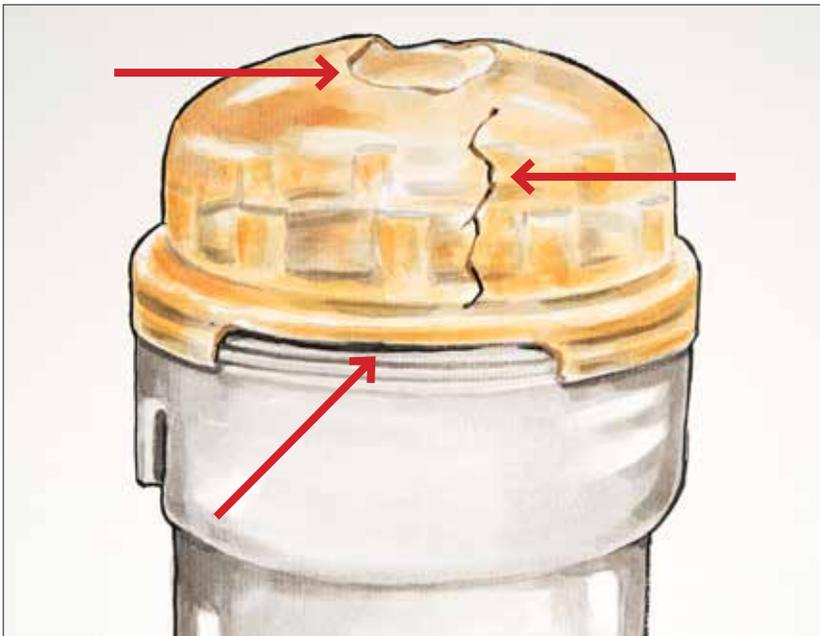
Un insert de centrifugeuse avec une base en forme de V supporte les tubes de centrifugeuse en évitant de les endommager



Un insert à fond plat ne peut pas supporter un tube passé à la centrifugeuse et peut l'endommager ou le fendre



Avant chaque utilisation, vérifier les joints toriques pour s'assurer qu'ils ne sont pas fissurés ou cassés. Les joints toriques peuvent se trouver dans le couvercle ou le godet



Ne pas utiliser des couvercles endommagés ou cassés. Remplacer les joints toriques fissurés, cassés ou manquants



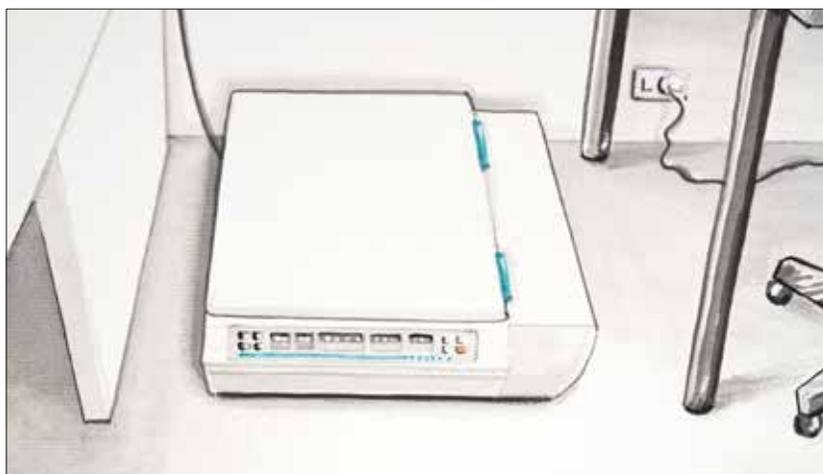
Emplacement de la centrifugeuse

La centrifugeuse doit être localisée

- Dans la partie « sale » du laboratoire ;
- Près de l'ESB ;
- Sur une paillasse solide et stable, capable de supporter le poids et les vibrations générés lors de l'utilisation ;
- Avec une position de travail correcte d'un point de vue ergonomique ;
- Loin de l'eau, des éviers ou des produits chimiques pour éviter les éclaboussures ou les déversements ;
- Dans une zone sans poussière.



Posée sur une paillasse solide



Ne pas placer une centrifugeuse sur le sol

- Risque de pénétration de poussières et d'insectes dans les équipements
- Risque de trébucher
- Mauvaise ergonomie

Utilisation d'une centrifugeuse

Une charge équilibrée et symétrique est essentielle pour toutes les centrifugeuses.

Une charge déséquilibrée crée des vibrations qui endommagent la centrifugeuse. Chaque charge doit être équilibrée autour de l'axe central.

La plupart des centrifugeuses ont quatre emplacements pour les godets oscillants ; tous les emplacements doivent être occupés avec le même type et la même spécification de godet, d'insert et de couvercle. Ne pas utiliser de composants provenant d'un autre fabricant, sauf s'ils sont spécifiquement approuvés.



NE JAMAIS FAIRE FONCTIONNER UNE CENTRIFUGEUSE AVEC LE COUVERCLE OUVERT

ARRÊTER IMMÉDIATEMENT LA CENTRIFUGEUSE EN CAS DE BRUIT INHABITUEL



Tous les emplacements sont chargés de manière identique



Chaque godet doit contenir le même nombre de tubes et être chargé de manière identique



Tous les emplacements doivent être chargés

Nombre inégal de tubes

- Utiliser des tubes remplis d'eau pour équilibrer la charge de la centrifugeuse
- Étiqueter clairement les tubes contenant de l'eau afin qu'ils ne soient pas confondus avec des échantillons
- Certains laboratoires utilisent des tubes pré-préparés de volumes variables

Nettoyage et entretien

Quotidiennement - après usage

- Éteindre et laisser le couvercle ouvert
- Laisser la cuve de la centrifugeuse atteindre la température ambiante
- Essuyer toute humidité
- Fermer le couvercle
- Séparer les godets, les inserts et les couvercles et les placer sur une serviette en papier ou en tissu pour les faire sécher

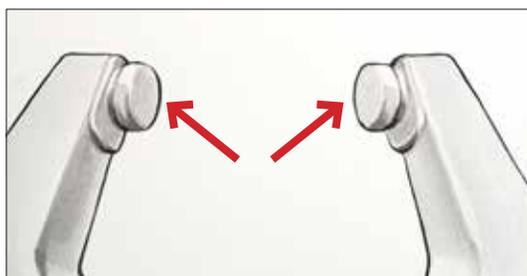
De façon hebdomadaire

S'il n'y a pas eu de déversement, nettoyer chaque semaine la cuve de la centrifugeuse, le rotor, les godets, les inserts et les couvercles

- Vérifier la condensation dans le bassin de la centrifugeuse
- Vérifier que le coussin en caoutchouc situé à la base de la cuve de la centrifugeuse ne soit pas fissuré, usé ou endommagé
- Vérifier l'usure et la corrosion du rotor
- Le remplacer si nécessaire

Vérifier que les rotors et les tourillons ne sont pas fissurés

- Enlever la vieille graisse et tout débris
- Lubrifier les tourillons du rotor et les œillets du godet
- Utiliser une petite quantité de lubrifiant du fabricant ou de graisse à pH neutre



Les tourillons sont situés sur le rotor de la centrifugeuse



Les œillets sont situés de chaque côté du godet de centrifugeuse



NE PAS AJOUTER TROP DE LUBRIFIANT - IL SERAIT PULVÉRISÉ SUR LA PAROI DE LA CENTRIFUGEUSE

Vérifier que les godets ne présentent aucun signe de corrosion

- Piqûres
- Formation de plaques
- Changement de couleur
- Fissures



Godet d'une centrifugeuse présentant des signes précoces de corrosion et de mauvais nettoyage



Corrosion sévère
Remplacer immédiatement

Vérifier les couvercles

- Joints toriques intacts et correctement positionnés
- Retirer soigneusement tous les débris des joints toriques
- Pas de fissures ni de cassures
- Remplacer immédiatement les joints toriques et les couvercles fissurés ou usés
- Frotter légèrement les joints toriques et les saupoudrer de talc
- Les clips ne doivent pas être pliés ni endommagés



SIGNALER TOUT DOMMAGE AU SUPERVISEUR DU LABORATOIRE

NE PAS UTILISER LA CENTRIFUGEUSE SI LES GODETS ET LES COUVERCLES NE FORMENT PAS UN JOINT ÉTANCHE

Désinfection

- Vérifier les instructions du fabricant
- Autoclavage des godets et des inserts à 121 °C pendant 15 minutes maximum
- Désinfecter les couvercles avec un désinfectant phénolique ou à base de chlore pendant 15 minutes
 - Si un désinfectant à base de chlore est utilisé, laver à l'eau ou à l'alcool à 70 % v/v et sécher



Pour le nettoyage des déversements, voir le chapitre 10.

Autres considérations

Lors de la commande d'une nouvelle centrifugeuse, inclure au moins deux jeux de couvercles et de joints toriques de rechange dans l'appel d'offres car ce sont les éléments les plus fragiles de l'équipement.

Acheter seulement une centrifugeuse dont le couvercle verrouillé ne peut pas être ouvert pendant l'utilisation.

La centrifugeuse doit être entretenue chaque année par un technicien de maintenance qualifié qui doit s'assurer que l'unité fonctionne correctement et en toute sécurité. L'entretien doit comprendre

- Nettoyage des serpentins du condenseur, des ventilateurs, des écrans et des filtres
- Contrôle des brosses de la centrifugeuse, des roulements, de la minuterie, de la température et de la vitesse et vérification de l'intégrité électrique

Le technicien de maintenance doit délivrer un certificat d'inspection indiquant le respect de la sécurité et le bon fonctionnement.

Incubateurs**Tenir compte des caractéristiques suivantes lors de l'achat d'un incubateur.**

- Contrôles électroniques à l'extérieur
- Double porte extérieure pour les grands incubateurs
- Les portes intérieures en verre permettent la présélection des cultures
- Roulettes de chariot (avec blocage au pied) pour faciliter les déplacements
- Vérifier le niveau de bruit produit lors de l'utilisation
- Combien d'étagères sont incluses ? En commander plus si nécessaire

La taille appropriée de l'incubateur (volume) dépend

- De la charge de travail ;
- De la taille du tube contenant le milieu (par exemple, McCartney) ;
- Du nombre de tubes par portoir.

Emplacement de l'incubateur

Les incubateurs présentent un risque biologique car ils peuvent contenir de nombreuses cultures positives.

Tenir compte des points suivants

- Placer l'incubateur dans la partie « sale » du laboratoire
- Proche du traitement des échantillons ou des TDS
- Loin de l'eau, des éviers ou des produits chimiques pour éviter les éclaboussures ou les déversements
- Dans une zone sans poussière
- Loin de la lumière directe du soleil



LIRE LE MANUEL D'INSTRUCTIONS DE L'INCUBATEUR CAR IL PEUT CONTENIR DES INDICATIONS SUPPLÉMENTAIRES SUR L'EMPLACEMENT

Étagères

Envisager de commander des étagères supplémentaires auprès du fabricant lors de la commande.

Les étagères fabriquées sur mesure sont souvent inadaptées

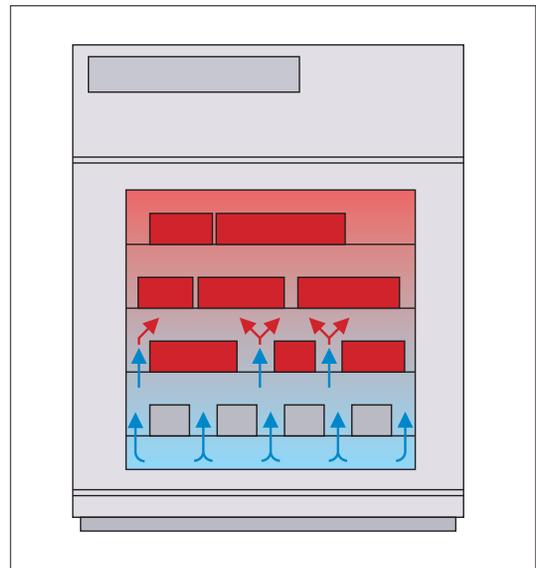
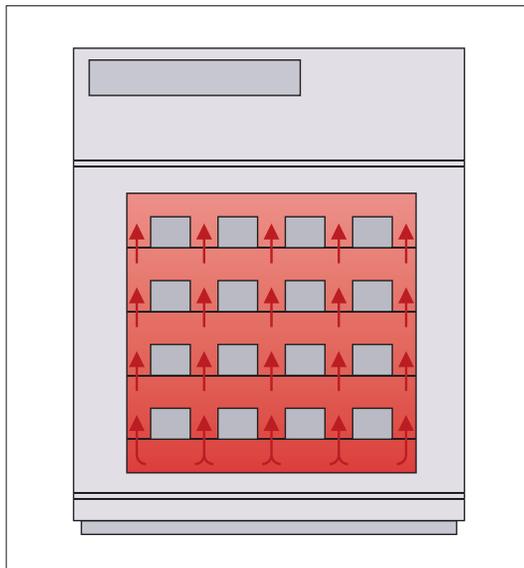
- Elles sont en métal avec des bords tranchants ou en bois
- Les étagères pleines ou celles qui présentent de petits trous peuvent gêner la circulation de l'air



Charger un incubateur

L'air chauffé doit circuler librement dans l'incubateur afin d'éviter les « points chauds ou froids ».

- Ne pas mettre les portoirs ou les cultures sur le sol de l'incubateur, car ils pourraient surchauffer
- Utiliser des portoirs de taille similaire et les disposer verticalement
- Utiliser toujours des portoirs de taille appropriée pour maintenir les tubes de culture en toute sécurité
- Ne pas surcharger les portoirs



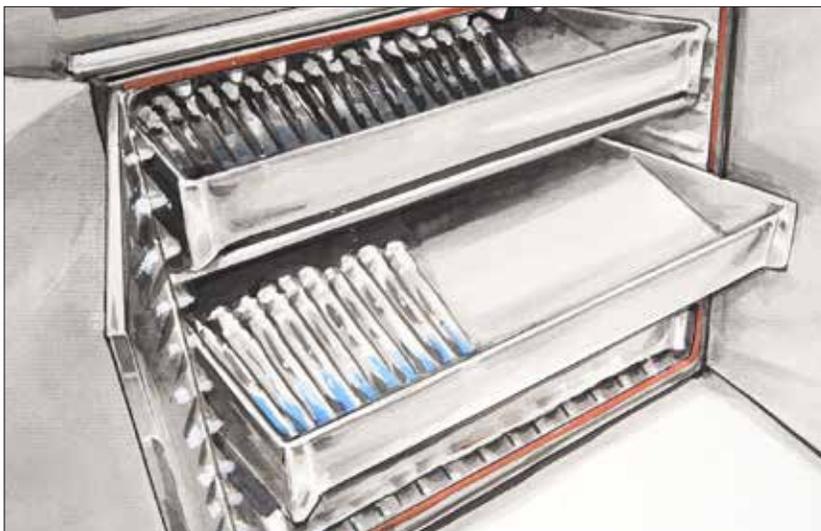
Un chargement correct assure une circulation de l'air et une distribution de la chaleur uniformes



Une charge inégale peut créer un mouvement d'air et une distribution de chaleur inégaux



Les grilles et plateaux ouverts permettent une circulation d'air efficace autour de tous les tubes



Des étagères ou des plateaux sans trous bloquent la circulation de l'air, ce qui nuit à l'incubation et à la croissance des organismes



Ne pas mettre les cultures sur le sol de l'incubateur, car elles pourraient surchauffer



Les portoirs de culture surchargés risquent de casser les tubes et de créer des températures d'incubation inégales

Nettoyage et entretien courants

Lire les instructions du fabricant.

Tous les mois, essuyer les surfaces intérieures et extérieures, y compris les étagères et les portoirs, avec de l'alcool à 70 % v/v.

Déversements

Pour le nettoyage des déversements, voir le chapitre 10.

Vortex



Le vortex est peut-être le plus grand générateur d'aérosols ; à utiliser toujours avec une extrême prudence.

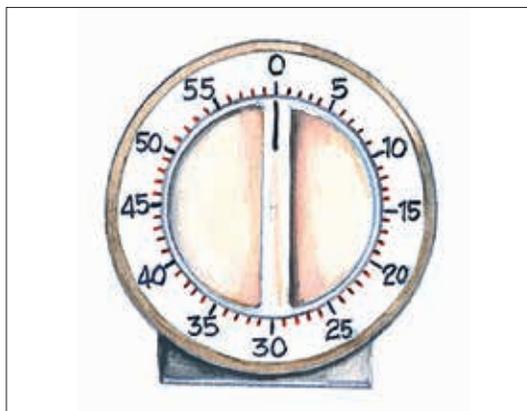
- Passer au vortex uniquement les tubes/récipients qui ont un bouchon étanche
 - La plupart des récipients d'échantillons n'ont pas de bouchon étanche
- Utiliser toujours le vortex à l'intérieur d'une ESB
- Ne pas ouvrir les échantillons passés au vortex pendant au moins 10 minutes
- Ne pas ouvrir des cultures de MTB passées au vortex pendant au moins 15 minutes



Utiliser toujours le vortex à l'intérieur d'une ESB



Ne jamais utiliser un vortex en dehors d'une ESB



Utiliser une minuterie pour garantir le respect des délais minimums



Il est plus facile de générer un vortex avec des tubes plus longs (par exemple, un tube de centrifugeuse de 50 ml)



Il est difficile de générer un vortex dans un récipient court et large tel qu'un récipient d'échantillon ou lorsque l'échantillon est visqueux

Nettoyage et entretien

Vérifier les instructions du fabricant

- Avant l'utilisation, vérifier que le coussin en caoutchouc n'est pas endommagé
- Après utilisation, essuyer avec de l'alcool à 70 % v/v

En cas de déversement, nettoyer les zones touchées en utilisant un désinfectant phénolique ou à base de chlore pendant au moins 15 minutes, puis essuyer avec de l'alcool à 70 % v/v.

Pour le nettoyage des déversements, voir le chapitre 10.

Portoirs

La conception d'un simple portoir est souvent ignorée. Cependant, elle a un impact majeur sur la sécurité du travail. Un portoir bien conçu et bien construit offrira des années de service et un environnement de travail plus sûr.

Des portoirs mal conçus ou mal fabriqués créent un risque élevé de génération d'aérosols et de contamination croisée.

Des portoirs appropriés doivent répondre aux exigences suivantes

- Être en métal ou en plastique résistant aux autoclaves/aux produits chimiques
- Soutenir les récipients au niveau de leur base
- Avoir des trous légèrement plus grands que le diamètre des tubes
- Permettre de séparer physiquement les tubes sans qu'ils se touchent
- Avoir assez de place pour que les doigts puissent saisir le récipient sans toucher
 - Le filetage ;
 - Les tubes adjacents.
- Permettre une lecture aisée des étiquettes

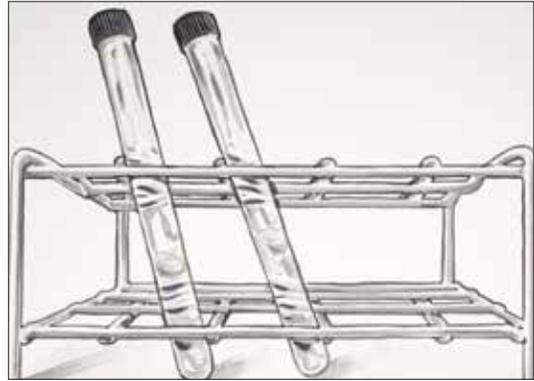
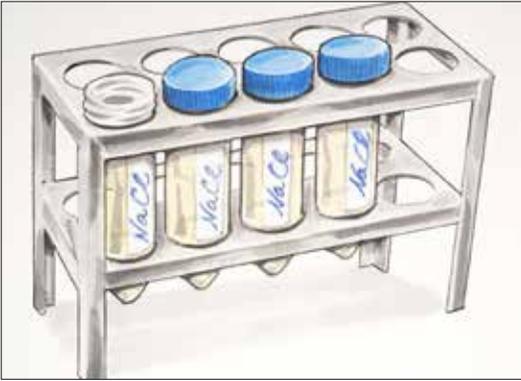


Les portoirs avec une ou plusieurs caractéristiques suivantes sont inadaptés

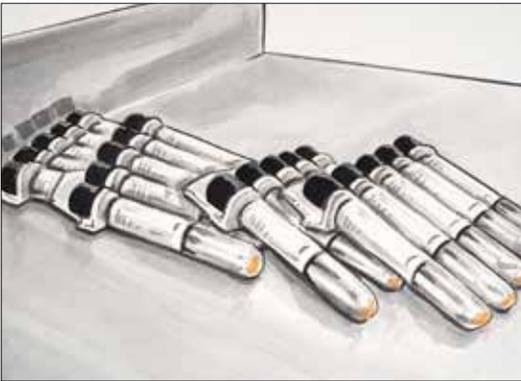
- Portoirs en bois
 - Ils absorbent les déversements, permettent aux champignons de se développer et ne peuvent pas être décontaminés
- Portoirs sans base
 - Supportent le récipient au niveau du filetage ;
 - Les récipients tombent lorsque les portoirs sont soulevés.
- Taille des trous inadaptée, les grands trous ne permettent pas de maintenir les petits tubes en position verticale
- Récipients en contact physique
- Difficulté à saisir un seul récipient sans en toucher un autre



Les tubes sont tenus verticalement, sont séparés les uns des autres, ont une base et de la place pour que les doigts puissent saisir un tube



Tubes maintenus au niveau du filetage, sans base et avec une taille de trous inadaptée



Les tubes doivent être maintenus en position verticale



Les flacons de culture sans support présentent un risque de déversement

Micropipettes

Les micropipettes sont des outils de précision conçus pour recueillir et délivrer des volumes de réactifs spécifiques.



Ne pas utiliser de micropipettes pour inoculer des échantillons traités sur des milieux car ceux-ci peuvent être visqueux, non homogènes et bloquer le cône.

Lorsqu'on libère le cône d'une micropipette, toujours le diriger vers le bas dans le bac à déchets.

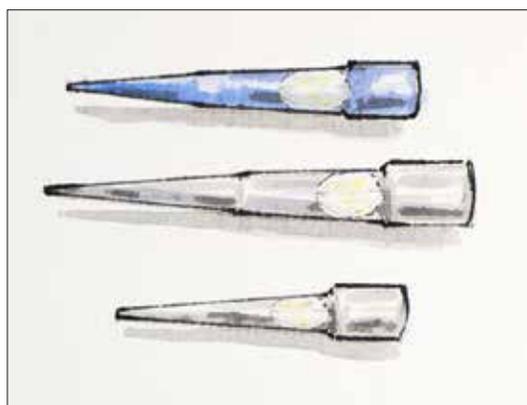


Sélection des cônes

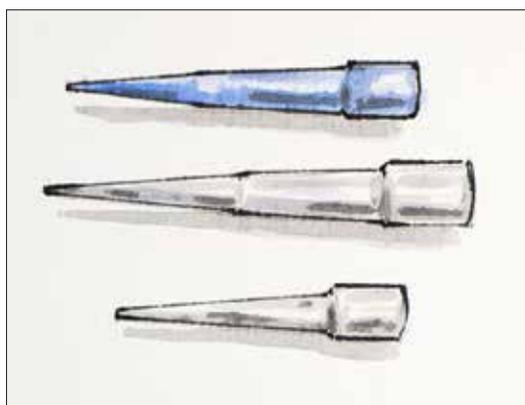
Il existe de nombreux types de cônes et de fabricants. Il faut vérifier que les cônes commandés sont adaptés aux micropipettes utilisées. En cas de doute, demander un échantillon à pour tester.

L'utilisation d'un cône inadapté peut entraîner la livraison de volumes inexacts ou des fuites qui créent un risque de danger biologique.

Pour éviter d'endommager ou de contaminer les tubes, utiliser toujours des cônes filtrants.



Cônes de micropipette filtrants



Cônes de micropipette non filtrants

Tenue de registres

Toutes les procédures de maintenance préventive doivent être documentées sur un journal de maintenance, signé et daté.

Objets tranchants

Il faut toujours faire très attention aux objets tranchants contaminés, notamment les lames, les pipettes et les scalpels.

Jeter les objets tranchants directement dans les récipients prévus à cet effet.

Risque d'infection

Le risque de blessure par piqûre d'aiguille et d'infection est très élevé lors de la manipulation d'une aiguille.



NE PAS UTILISER D'AIGUILLES/SERINGUES DANS UN LABORATOIRE DE TB

Bris de verre

Utiliser une brosse et une pelle ou des pinces pour ramasser les bris de verres.



NE JAMAIS RAMASSER DES BRIS DE VERRE AVEC LES DOIGTS

Résumé

Le placement, l'utilisation et l'entretien corrects des équipements de laboratoire feront une différence substantielle en matière de sécurité et d'environnement de travail. Comprendre comment utiliser correctement le matériel aide à se protéger contre les dangers.

9

GESTION DES DÉCHETS DE LABORATOIRE

Les déchets sont constitués de tout ce qui doit être jeté du laboratoire. Pour minimiser les risques sanitaires pour le personnel et la communauté, les déchets de laboratoire doivent être éliminés correctement. Les procédures doivent être conformes aux réglementations locales et nationales pertinentes.

	PAGE
Types de déchets	132
Au sein du laboratoire	132
En dehors du laboratoire	134
Autoclave	134
Résumé	140



Les déchets ne doivent pas s'accumuler dans un laboratoire. Les activités quotidiennes de travail comprennent la gestion des déchets et du temps doit être alloué au personnel pour effectuer ce travail.

Il est de la responsabilité du personnel de gérer correctement les déchets.

Avant le retrait des déchets d'un laboratoire, le responsable du laboratoire doit s'assurer

- Que les déchets ont été désinfectés efficacement selon la procédure appropriée ou
- Qu'ils ont été conditionnés dans un récipient ou un sac scellé en vue d'une incinération immédiate sur place ou d'un passage à l'autoclave
- Qu'il n'y a aucun risque supplémentaire d'aucune sorte pour toute personne devant manipuler ou pouvant entrer en contact avec le matériel désinfecté

Types de déchets

Déchets à faible risque

Les déchets qui n'ont pas été en contact direct avec des matières infectieuses telles que des cultures inoculées ou des kits de test usagés.

Par exemple

- Emballage des consommables, des réactifs ou des kits de test
- Matériel utilisé pour l'envoi des échantillons au laboratoire (sac plastique ou matériaux absorbants à condition qu'il n'y ait pas eu de fuite de l'échantillon)
- Tout objet retiré d'une ESB qui a été désinfecté avant son retrait
- Déchets qui ont déjà été désinfectés ou passés à l'autoclave
- Déchets en double sac dont la surface du sac extérieur a été désinfectée

Déchets à haut risque

- Tout ce qui a été en contact direct avec du matériel infectieux
- Tout objet retiré d'une ESB sans avoir été désinfecté au préalable



APRÈS L'AUTOCLAVAGE, LES DÉCHETS À HAUT RISQUE DEVIENNENT DES DÉCHETS DE LABORATOIRE À FAIBLE RISQUE

Au sein du laboratoire

Le personnel des laboratoires est responsable de la gestion des déchets à faible risque et à haut risque.

- Une procédure pour le conditionnement correct des déchets à haut risque et faible risque doit être disponible au sein du laboratoire
- Le personnel doit être compétent et respecter les procédures de gestion des déchets
- Des matériaux appropriés (sacs, boîtes, récipients avec couvercles verrouillables) doivent être disponibles dans le laboratoire. La procédure doit être revue régulièrement par le superviseur afin de s'assurer qu'elle reste à jour

- Le personnel doit être évalué régulièrement pour confirmer que la procédure est respectée
- Le personnel de nettoyage ne doit pas manipuler les déchets à haut risque
 - Ils n'ont pas (ou peu) de compréhension des risques infectieux
 - Ils n'ont pas de connaissances techniques sur la gestion correcte d'un déversement infectieux



Les déchets infectieux qui n'ont pas été passés à l'autoclave ou décontaminés doivent être mis dans un double emballage et scellés puis placés dans un récipient verrouillable pour être retirés du laboratoire. Un sac pour autoclavage marqué d'un logo de danger biologique convient

En dehors du laboratoire



Les poubelles doivent être situées à l'extérieur, mais à proximité de la sortie du laboratoire et à l'intérieur de l'établissement. Elles doivent être vidées régulièrement. Ne pas stocker les déchets de laboratoire en dehors du bac. Les bacs doivent être sécurisés afin que seul le personnel autorisé puisse y accéder.



Autoclave



LES RISQUES COMPRENNENT LA CHALEUR ET LA VAPEUR SOUS PRESSION

L'utilisation de vapeur saturée à haute pression est un moyen très efficace de tuer les bacilles tuberculeux. Dans un autoclave, tout l'air de la chambre est remplacé par de la vapeur sous pression (généralement 115 kPa ou 15 psi) à 121 °C.

Idéalement, un laboratoire devrait disposer d'autoclaves séparés pour les charges « propres » (préparation des milieux, stérilisation de la verrerie) et « sales » (déchets infectieux du laboratoire). S'il n'y a qu'un seul autoclave disponible, désigner des jours distincts pour les procédures d'autoclavage sales et propres.

Laboratoires de TB à risque modéré

Tous les déchets à haut risque doivent être passés à l'autoclave avant d'être évacués de l'installation. L'autoclave doit se trouver dans le laboratoire de TB. S'ils sont correctement conditionnés, les déchets à haut risque peuvent être transférés dans un autoclave à l'intérieur de l'établissement mais en dehors du laboratoire de TB. Les déchets à faible risque peuvent être retirés du laboratoire pour être incinérés ou enfouis si la réglementation locale le permet.

Lorsque l'autoclave se trouve à l'intérieur de l'établissement mais en dehors du laboratoire, il doit y avoir une protection adéquate pour prévenir tout accès non autorisé. Idéalement, les déchets à haut risque devraient être remis directement au personnel pour un autoclavage immédiat.



POUR LES LABORATOIRES DE TB À RISQUE MODÉRÉ, UN AUTOCLAVE DOIT ÊTRE DISPONIBLE DANS L'ÉTABLISSEMENT - IDÉALEMENT DANS LE LABORATOIRE DE TB

Laboratoires de TB à haut risque

Pour les laboratoires de TB à haut risque, un autoclave doit être installé dans le laboratoire, et tous les déchets, y compris les déchets à faible risque, doivent passer à l'autoclave avant leur sortie du laboratoire.



POUR LES LABORATOIRES DE TB À HAUT RISQUE, UN AUTOCLAVE DOIT ÊTRE DISPONIBLE DANS L'ÉTABLISSEMENT - IDÉALEMENT DANS LE LABORATOIRE DE TB

Fonctionnement de l'autoclave

Le laboratoire a besoin d'un espace pour

- Le stockage temporaire des déchets de laboratoire avant leur passage dans l'autoclave ;
- Le refroidissement des éléments après leur passage à l'autoclave et avant leur retrait.

Les laboratoires disposant d'un autoclave traversant peuvent stocker les déchets stérilisés en dehors du laboratoire, mais doivent veiller à ce qu'ils soient stockés en toute sécurité.



-  Déchets infectieux
-  Déchets stérilisés

Pour les laboratoires avec une charge de travail importante, il faut prévoir suffisamment d'espace pour le stockage de volumes importants avant et après l'autoclavage et pour un chariot.

Conditions de fonctionnement pour les cultures

Les conditions de fonctionnement d'un autoclave et un emballage correct déterminent l'efficacité de la stérilisation. Les conditions de fonctionnement varient en fonction de la taille et de la charge de l'autoclave.

À titre indicatif, les dispositions suivantes s'appliquent

- Déchets à faible risque : 121 °C minimum à 115 kPa pendant au moins 15 minutes
- Déchets à haut risque : 121 °C minimum à 115 kPa pendant au moins 45 minutes

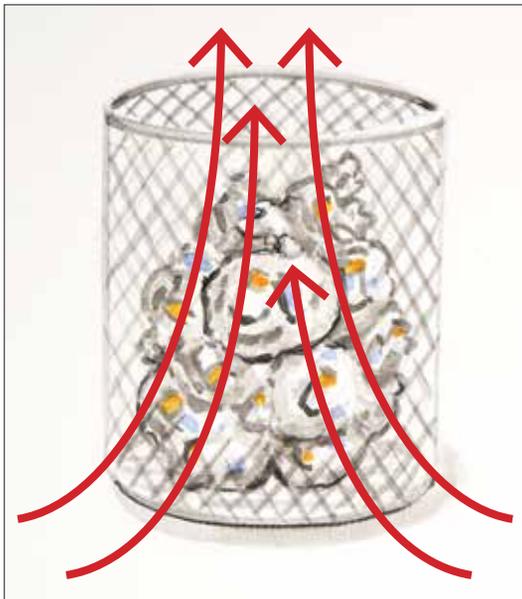


LIRE LES INSTRUCTIONS DU FABRICANT POUR ÉTABLIR LES RÉGLAGES CORRECTS EN FONCTION DE LA CHARGE À STÉRILISER

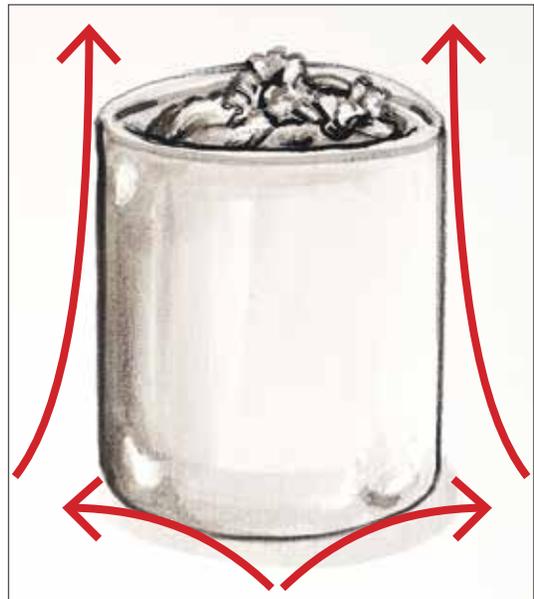
Chargement de l'autoclave

Pour garantir une stérilisation efficace, ne pas surcharger l'autoclave

- Utiliser uniquement les paniers d'autoclaves fournis par le fabricant
- Immédiatement avant le démarrage de l'autoclave
 - Ouvrir avec précaution les sacs ou les récipients fermés ;
 - Ajouter soigneusement 50 à 100 ml d'eau pour faciliter la stérilisation ;
 - Fermer les sacs ou les récipients.



Chargement correct
Un panier en treillis métallique ouvert permet à la vapeur d'entrer en contact avec tous les déchets



Chargement incorrect
Un seau sans trous limite le contact de la vapeur avec tous les déchets



Habillement adapté pour décharger un autoclave

- 1 Un écran en plastique transparent pour couvrir le visage et une sangle réglable pour la tête
- 2 Un tablier résistant
- 3 Les gants doivent être fabriqués dans un matériau isolant thermique et couvrir les mains et l'avant-bras jusqu'au coude



LES GANTS UTILISÉS POUR LES ACTIVITÉS DE LABORATOIRE N'OFFRENT PAS DE PROTECTION CONTRE LA CHALEUR

Écran en plastique transparent pour couvrir le visage et une sangle réglable pour la tête

Un tablier résistant à porter lors du déballage de l'autoclave

- Fabriqué dans un matériau imperméable et résistant à la chaleur
- Attaché au cou et à la taille
- Couverture complète de la poitrine, de l'abdomen et des jambes

S'assurer que le cycle est terminé avant d'ouvrir l'autoclave.

Ouvrir partiellement le couvercle et laisser le chargement refroidir.



RISQUE DE BRÛLURES - LORS DE L'OUVERTURE DE L'AUTOCLAVE, VEILLER À CE QUE LA VAPEUR NE S'ÉCHAPPE PAS

DE GRANDS VOLUMES DE LIQUIDE PEUVENT BOUILLIR ET DÉBORDER EN CAS DE DÉPLACEMENT - LAISSER REFROIDIR AVANT DE DÉPLACER

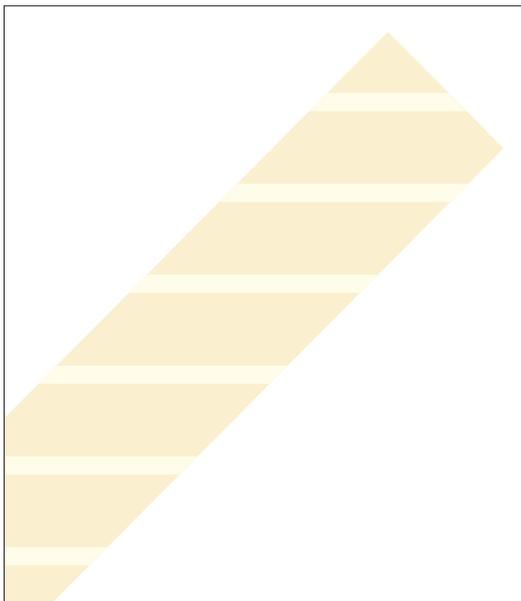
Suivi des performances

Des systèmes visuels et biologiques sont utilisés pour évaluer les performances d'un autoclave.

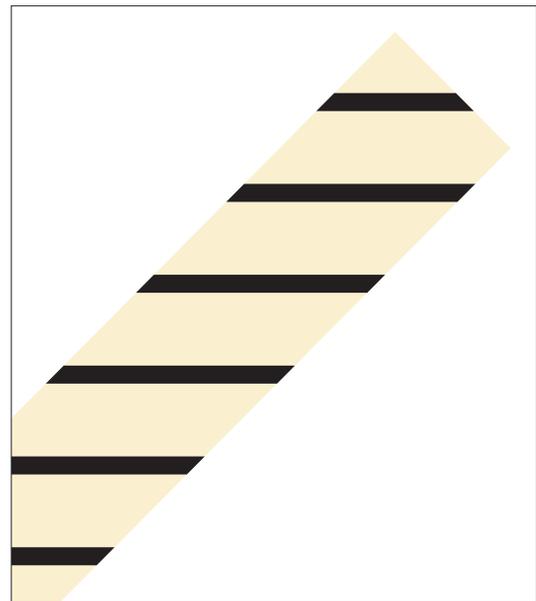
- Les systèmes visuels tels que les rubans, les cartes ou les papiers confirment que les conditions de température ont été respectées mais ne confirment pas que la destruction microbienne a eu lieu
- Les indicateurs biologiques montrent qu'il y a eu destruction microbienne

Systèmes visuels

Tous les chargements doivent comporter un contrôle visuel qui montre que la température requise a été atteinte. Certains systèmes visuels fournissent également des informations sur les conditions de vapeur.



Bande autoclave non utilisée (NEG)



Bande autoclave utilisée (POS)

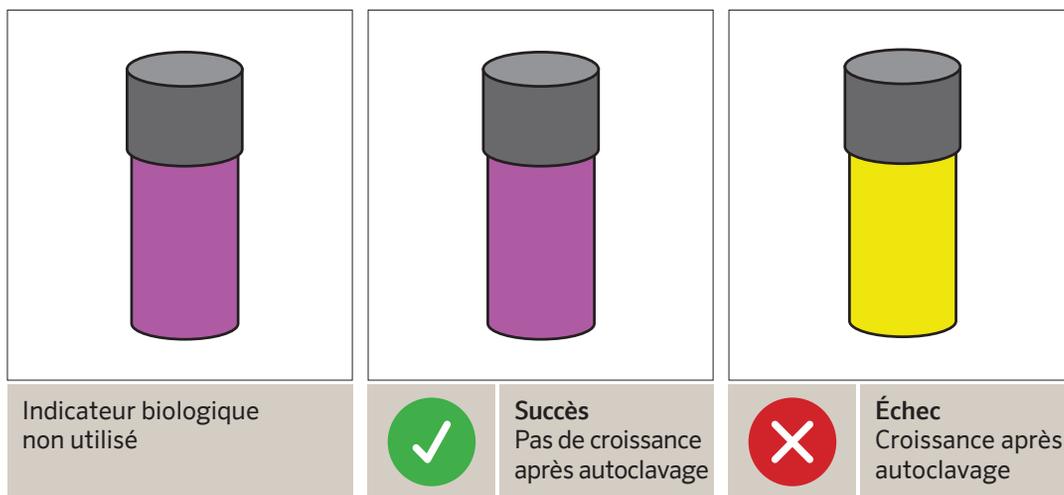


DES INDICATEURS VISUELS DOIVENT ÊTRE UTILISÉS LORS DE CHAQUE CYCLE

Indicateurs biologiques

La technique des spores bactériennes est la méthode la plus largement acceptée pour vérifier les performances des autoclaves. Elle permet de vérifier si les spores des espèces *Geobacillus stearothermophilus* ou *Bacillus* ont été tuées.

Après incubation, croissance (échec) ou pas de croissance (succès).



Les indicateurs enzymatiques bactériens fonctionnent de la même manière. Ils sont testés après l'autoclavage et une fois qu'un substrat est ajouté, un changement de couleur indique si les conditions de fonctionnement ont été respectées.

Tous les indicateurs biologiques doivent être placés en profondeur dans le chargement pour mesurer correctement les conditions de fonctionnement.



Si les tests visuels ou biologiques échouent, le chargement reste potentiellement infectieux et doit être

- Repassé à l'autoclave avec confirmation par un indicateur de la réussite du cycle ;
- Transféré dans un autre autoclave au sein de l'établissement ;
- Conservé en toute sécurité jusqu'à la réparation de l'autoclave.



LES INDICATEURS BIOLOGIQUES DOIVENT ÊTRE UTILISÉS CHAQUE SEMAINE

Thermocouples

La validation des conditions de fonctionnement de l'autoclave à l'aide de thermocouples fournit une mesure plus détaillée des performances et devrait être effectuée au moins une fois par an.

Les thermocouples mesurent la température et fournissent une lecture continue des données ; ils sont placés à plusieurs endroits du chargement pour déterminer l'efficacité de la stérilisation.

Entretien

Lire, comprendre et respecter les instructions du fabricant sur les procédures d'entretien d'un autoclave.

Certaines activités peuvent être effectuées par le personnel du laboratoire

Quotidiennement

- Vérifier que le panneau de contrôle est opérationnel et qu'il n'y a pas de voyants lumineux
- Les joints d'étanchéité des portes sont en place et ne sont pas endommagés
- Les niveaux d'eau sont satisfaisants
- Le bac à déchets n'est pas plein

De façon hebdomadaire

- Nettoyer l'extérieur avec un détergent doux et sécher
- Vérifier les niveaux de papier et d'encre de l'imprimante, le cas échéant

Les contrôles de maintenance doivent être effectués tous les 6 mois par un ingénieur qualifié conformément aux instructions du fabricant.

Tenue de registres

Tous les contrôles de maintenance et de performance doivent être documentés, signés et datés.

Résumé

La gestion efficace des déchets fait partie intégrante des activités quotidiennes des laboratoires et contribue à la sécurité du personnel et de la communauté.

10

GESTION DES DÉVERSEMENTS INFECTIEUX

Les déversements infectieux de cultures positives et/ou d'inocula fortement concentrés présentent un risque élevé pour le personnel.

	PAGE
Gestion des déversements	142
Kit de lutte contre les déversements - éléments nécessaires	143
Nettoyage des déversements	145
Déversements à l'intérieur d'une ESB	145
Déversements à l'extérieur d'une ESB	147
Résumé	151



UN DÉVERSEMENT À L'EXTÉRIEUR D'UNE ESB EST UN INCIDENT MAJEUR ET EXPOSE LE PERSONNEL AU PLUS GRAND RISQUE

LES DÉVERSEMENTS IMPLIQUENT GÉNÉRALEMENT DES LIQUIDES ET DES AÉROSOLS DE NOYAUX DE GOUTTELETTES INFECTIEUX SONT GÉNÉRÉS

Gestion des déversements

Le responsable du laboratoire doit s'assurer de l'application des éléments suivants

- La santé du personnel est régulièrement surveillée
- Tout le personnel de laboratoire connaît les symptômes de la TB
- Le personnel est formé pour gérer les déversements en toute sécurité
 - Une formation de mise à jour est organisée au moins une fois par an
- Des ressources suffisantes sont prévues pour le nettoyage
 - équipement ;
 - EPI ;
 - consommables et réactifs.
- Il existe une procédure opérationnelle standard pour la gestion des déversements infectieux, qui doit être révisée chaque année
- Des formulaires d'enregistrement des incidents de déversement sont disponibles
- Une enquête est menée après l'incident afin d'identifier la ou les causes sous-jacentes et les actions correctives pour éviter qu'un incident ne se reproduise
- Il y a une gestion clinique du personnel impliqué dans le déversement

Le personnel-cadre est responsable du nettoyage des déversements et de la préparation d'un rapport à l'intention du responsable du laboratoire.

Kit de lutte contre les déversements - éléments nécessaires

Au moins deux kits d'intervention en cas de déversement doivent toujours être disponibles.

- Un à l'intérieur du laboratoire
- Un autre dans le sas ou le vestibule



Kit d'intervention en cas de déversement dans un récipient verrouillable

Une liste de contenu détaillant chaque élément, la quantité et les dates de péremption des solutions mères doit être placée sur le couvercle du récipient et vérifiée chaque trimestre par le personnel



LES SUPERVISEURS SONT CHARGÉS DE VEILLER À CE QUE LES KITS D'INTERVENTION EN CAS DE DÉVERSEMENT SOIENT VÉRIFIÉS TOUS LES TRIMESTRES

Contenu du kit d'intervention en cas de déversement

Procédure opérationnelle standard

- Au moins un exemplaire imprimé, révisé chaque année

Panneau

- Symbole de danger biologique et en gros caractères **ne pas entrer**



Désinfectant

- Solution phénolique ou d'hypochlorite synthétique concentrée
- 500 ml minimum
- La date d'expiration doit être clairement indiquée sur le côté du récipient
- Une solution de travail sera élaborée au moment du nettoyage



Masque respiratoire

- Une sélection de différents types de masques N95/FFP2 stockés dans un sac « ziplock »
- Les masques N95/FFP2 doivent être adaptés à des visages de taille et de forme différentes
- Stockage près du haut du récipient pour éviter l'écrasement

Protection des yeux

- Au moins 2 paires de lunettes de sécurité avec protection intégrale des yeux

Gants

- 3 sachets de gants de petite, moyenne et grande taille (10 par sac), indiquer les dates d'expiration sur chaque sachet

Blouses

- Au moins 2 blouses dans chaque taille (petite, moyenne et grande)
- Jetable, manches longues, manches élastiques aux poignets et ouverture dans le dos
- Fabriqué à partir d'un matériau résistant aux liquides

Charlotte et sur-chaussures

- 4 à 6 de chaque
- Jetables, élastiques

Récipient pour objets tranchants (jetable)

- Contenance d'au moins 500 ml, fermeture à clip, résistant à la perforation et à l'autoclave

Sacs pour déchets biologiques

- 6 grands sacs et 6 petits sacs au minimum, en plastique résistant et autoclavable

Matériaux absorbants

- Rouleau de coton
- Rouleau de papier essuie-tout
- Serviette absorbante

Divers

- Une paire de ciseaux (jetables)
- Deux paires de pinces ou de forceps (jetables)



Nettoyage des déversements

Lorsqu'il est déversé, un liquide de MTB fortement concentré se sépare en trois parties.

- La plus grande partie constitue des flaques de liquide
- Une partie plus petite se détache en éclaboussures
- Une partie en aérosol
 - Les gros aérosols ($>5 \mu\text{m}$ de diamètre) se déposent rapidement et ne sont pas réaérosolisés
 - Les petits aérosols ($<5 \mu\text{m}$ de diamètre) sèchent et peuvent rester en suspension dans l'air pendant un certain temps
 - Les aérosols peuvent circuler dans l'ESB ou le laboratoire

Déversements à l'intérieur d'une ESB

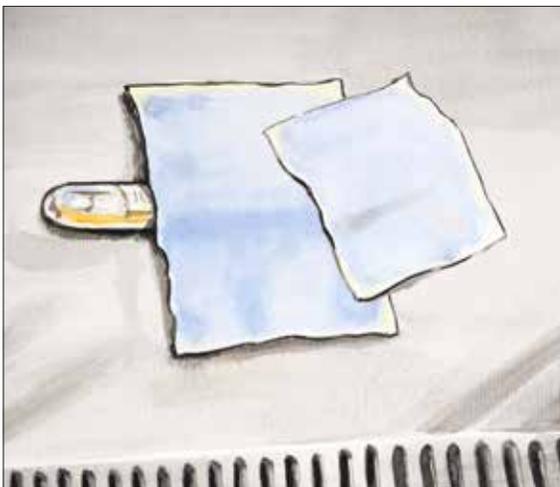
Les déversements à l'intérieur d'une ESB présentent un risque moindre, car ils sont contenus et les aérosols infectieux générés sont éliminés par l'ESB.



MAINTENIR L'ESB EN FONCTIONNEMENT - NE PAS ÉTEINDRE

NE PAS PERTURBER LE RIDEAU D'AIR AVANT

- 1 Attendre 15 minutes que les aérosols dans l'ESB soient éliminés avant de commencer la procédure de nettoyage
Porter une blouse à manches longues et des gants qui recouvrent les poignets
- 2 Imbiber le matériau absorbant de désinfectant, puis couvrir le déversement
Si les façades de l'ESB sont contaminées, les essuyer avec un désinfectant



Couvrir le déversement avec un matériau absorbant imbibé de désinfectant

**LAISSER LE DÉSINFECTANT PENDANT AU MOINS 30 MINUTES**

- 3 Utiliser des pinces pour ramasser des objets tranchants et les placer dans un récipient pour objets tranchants
- 4 Placer les dispositifs jetables non utilisés au sein de l'ESB dans un sac à risques biologiques - **ne pas réutiliser**
- 5 Essuyer le matériel et les dispositifs réutilisables avec un désinfectant (par exemple, vortex, micropipettes, godets de centrifugeuse, inserts, couvercle, etc.)

**LAISSER LE DÉSINFECTANT AGIR PENDANT AU MOINS 30 MINUTES**

- 6 Retirer l'équipement de l'ESB
- 7 Essuyer les façades, le sol et l'intérieur du panneau en verre avec le désinfectant et laisser le agir pendant au moins 30 minutes
- 8 Retirer la grille et l'essuyer avec du désinfectant. Vérifier que la cuve n'est pas contaminée ; si elle est contaminée, ajouter suffisamment de solution désinfectante pour couvrir le fond
- 9 Laisser agir pendant 30 minutes avant de nettoyer
- 10 Placer tout le matériel de nettoyage dans un sac à risques biologiques
- 11 Enlever les gants à l'intérieur de l'ESB et les placer dans le sac à risques biologiques
- 12 Placer le sac à risques biologiques dans un second sac et stériliser à l'autoclave
- 13 Prises de courant
Vérifier les disjoncteurs et les interrupteurs de défaut à la terre
Signaler les défauts au responsable du laboratoire
- 14 **Ne pas** utiliser l'ESB avant que le responsable du laboratoire et les cadres supérieurs aient approuvé son utilisation
Une fumigation de l'ESB peut être nécessaire

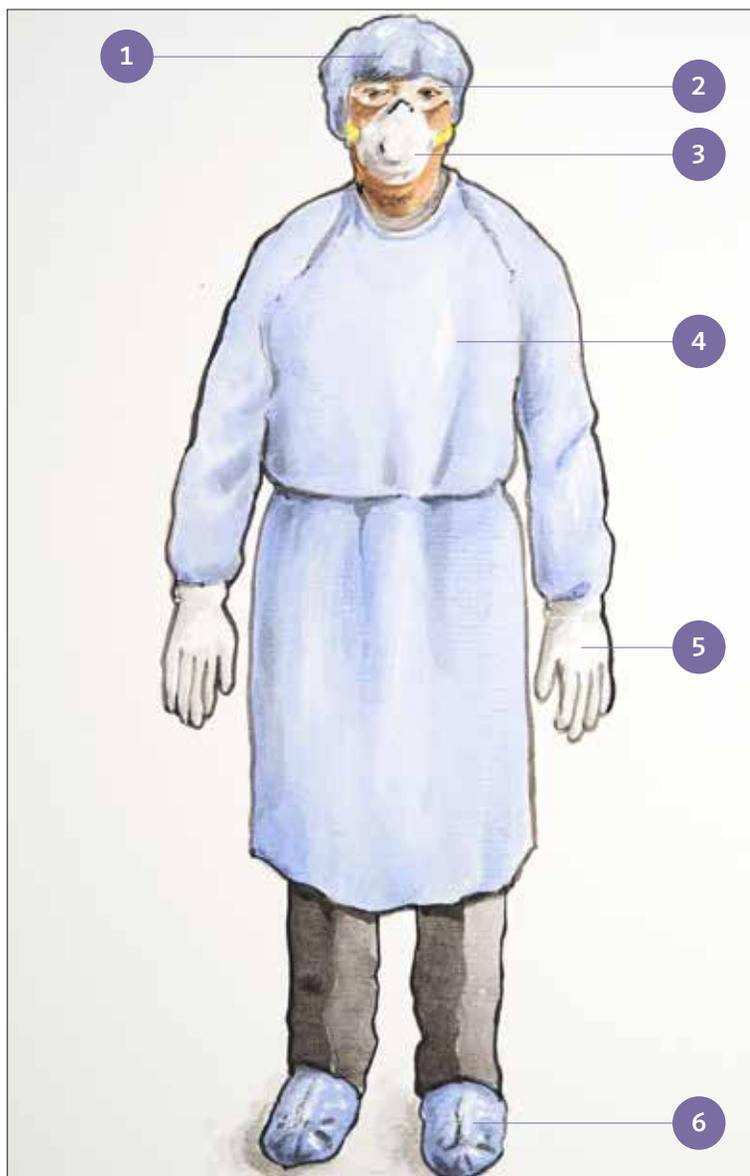
Déversements en dehors d'une ESB



- 1 Évacuer immédiatement toutes les personnes du laboratoire
 - En cas de port d'un masque respiratoire, le laisser en place
 - Retirer tous les autres EPI et les placer sur le sol du laboratoire
 - Une fois à l'extérieur, retirer et jeter le masque respiratoire, le cas échéant
 - Se laver les mains
- 2 Informer immédiatement le responsable du laboratoire qu'un déversement s'est produit en dehors de l'ESB
- 3 Empêcher l'entrée
Placer un membre du personnel à la porte du laboratoire pour empêcher toute personne d'entrer
- 4 Ouvrir le kit de lutte contre les déversements et placer le panneau **ne pas entrer** sur la porte extérieure du laboratoire
- 5 Noter l'heure - attendre une heure avant de rentrer dans le laboratoire pour permettre au système de ventilation d'éliminer les aérosols
- 6 Pendant la période d'exclusion d'une heure
 - Le personnel cadre détermine qui sera impliqué dans le nettoyage et attribue les rôles
 - Discussion de la nature du déversement
 - La localisation du déversement
 - Estimation du volume et de la concentration de BAAR/ml
 - Révision de la SOP pour le nettoyage
 - Révision du contenu du kit de lutte contre les déversements
 - Préparation d'un matériau absorbant et d'une solution désinfectante
 - Vérifier si des éléments supplémentaires sont nécessaires
- 7 Trois personnes sont nécessaires
 - Une personne pour surveiller la porte et observer le nettoyage depuis l'extérieur du laboratoire
 - Deux personnes pour faire le ménage
 - Une personne est le nettoyeur principal
 - La deuxième personne fournit les éléments nécessaires au nettoyage selon les instructions du nettoyeur principal



- 8 Après la période d'exclusion d'une heure, et avant d'entrer dans le laboratoire, deux membres de l'équipe de nettoyage enfilent l'EPI du kit de lutte contre les déversements

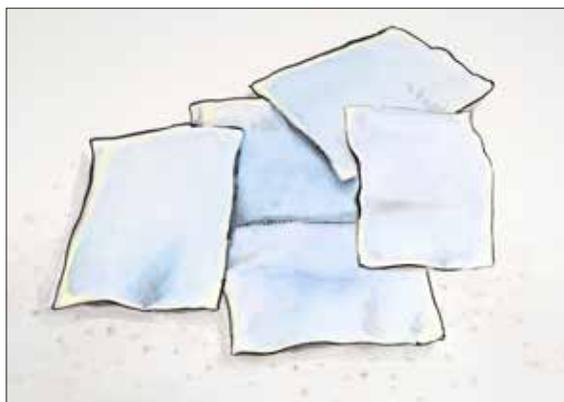
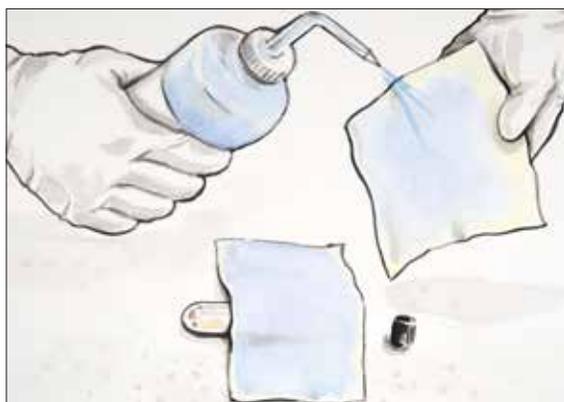


Voici la tenue requise

- 1 Couverture des cheveux
- 2 Protection des yeux
- 3 Masque N95/FFP2
- 4 Blouse à manches longues
- 5 Gants jetables
- 6 Sur-chaussures

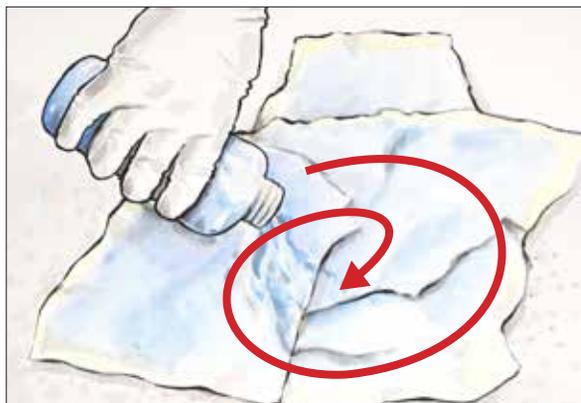
10 GESTION DES DÉVERSEMENTS INFECTIEUX

- 9 Entrer dans le laboratoire et évaluer la situation
 - Confirmer la localisation et l'ampleur du déversement
 - Fournir un bref résumé verbal à la personne qui se présente à la porte du laboratoire et confirmer que les plans de nettoyage sont appropriés
 - Rassembler tous les EPI laissés pendant l'évacuation et les placer dans un sac à risques biologiques
- 10 Couvrir la zone de déversement avec un matériau absorbant imbibé de désinfectant



Couvrir la zone de déversement avec du désinfectant

- 11 Verser soigneusement un supplément de désinfectant sur la zone de déversement, en commençant par le bord extérieur du déversement et en allant vers le centre
Éviter les éclaboussures de désinfectant



Verser le désinfectant sur le matériau absorbant

- 12 Attendre au moins 30 minutes pour que le désinfectant fasse effet
- 13 À l'aide d'une pincette, ramasser les fragments de verre brisé, les autres objets tranchants et les petits objets et les placer dans un récipient pour objets tranchants
- 14 Ramasser soigneusement les serviettes absorbantes et les placer dans un sac à risques biologiques
- 15 Nettoyer le liquide restant en essuyant à partir des bords et vers le centre
Mettre le matériau absorbant usagé dans un sac à risques biologiques
- 16 **Répéter** les étapes 10 à 15
- 17 Essuyer la zone avec de l'alcool à 70 % v/v
Placer la serviette utilisée dans un sac à risques biologiques
Laisser sécher
- 18 Rassembler tous les sacs à risques biologiques et les récipients d'objets tranchants et les placer dans un deuxième sac à risques biologiques, puis les passer à l'autoclave
- 19 Retirer tous les EPI et les placer dans un sac à risques biologiques pour les passer à l'autoclave
- 20 Se laver les mains et quitter le laboratoire



Après le nettoyage

- Organiser un débriefing avec les cadres supérieurs et le personnel de laboratoire impliqué dans le déversement
 - Confirmer que le laboratoire est sécurisé
 - Décrire la cause de l'incident
 - Détailler la procédure de nettoyage utilisée
- Organiser une évaluation clinique et un suivi pour tout le personnel du laboratoire pendant le déversement
- Réapprovisionner le kit de lutte contre les déversements
- Rédiger un rapport d'incident pour la direction
- Identifier les mesures correctives nécessaires
- Organiser une réunion formelle avec le personnel pour décrire l'incident et conseiller en matière de mesures correctives mises en œuvre
- Remplir le rapport d'incident

Les procédures et la formation en matière de gestion des déversements sont une exigence fondamentale pour travailler en toute sécurité dans un laboratoire de TB. La direction doit s'assurer que des procédures sont en place, qu'elles sont revues régulièrement et que le personnel est formé à l'utilisation du kit de lutte contre les déversements. La conduite d'un débriefing efficace et la mise en œuvre de mesures correctives réduiront la probabilité de futurs déversements.

Résumé

Même dans les meilleurs laboratoires, il arrive que des déversements infectieux se produisent. Les procédures et la formation en matière de gestion des déversements sont une exigence fondamentale pour travailler en toute sécurité dans un laboratoire de TB. La direction doit s'assurer que des procédures sont en place, qu'elles sont revues régulièrement et que le personnel est formé à l'utilisation du kit de lutte contre les déversements. La conduite d'un débriefing efficace et la mise en œuvre de mesures correctives réduiront la probabilité de futurs déversements.



ANNEXES

	PAGE
1 Récipients pour échantillons	154
2 Prélèvement d'expectoration	156
3 Suivi des échantillons	157
4 Les désinfectants et leur utilisation	162
5 Le lavage des mains	166
6 Références	167

Réceptiel idéal pour les échantillons

La qualité des récipients pour échantillons contribue de manière significative à la sécurité dans les laboratoires.



Spécifications des récipients



- Plastique polyéthylène/polypropylène incassable
 - Les récipients en polystyrène se fissurent ou se brisent facilement - ne pas les utiliser
- Goulot large >35 mm de largeur
- Volume ≥ 50 ml
- Étanche avec un couvercle hermétique
- Filetage multiple
- Zone en verre dépoli ou étiquette pour écrire avec un marqueur permanent



**LES RÉCIPIENTS POUR ÉCHANTILLONS SONT
À USAGE UNIQUE NE PAS LES RÉUTILISER**



Récipient propre contre récipient stérile

Certains tests de laboratoire reposent, pour leur précision, sur l'utilisation d'un récipient stérile. Pour d'autres tests, un récipient propre peut être suffisant.

Récipient pour échantillons propre

- Probablement exempt de microorganismes, mais la stérilité n'est pas garantie
- Convient pour la microscopie des frottis et pour le test GeneXpert
- Beaucoup moins cher que les récipients stériles

Récipient pour échantillons stérile

- Stérilisé par irradiation gamma ou au chlorure d'éthylène
- Nécessaire pour la culture du bacille tuberculeux et/ou les TDS
- Beaucoup plus cher que les récipients propres

Stockage

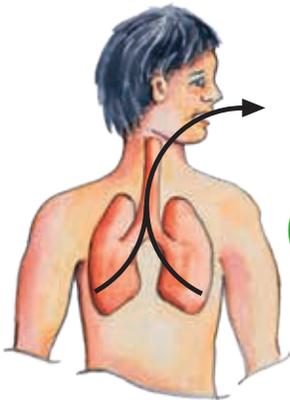
Les principaux éléments relatifs au stockage sont les suivants.

- Restreindre l'accès au laboratoire et au local de stockage au personnel autorisé
- Une humidité contrôlée pour minimiser la croissance des champignons
- Propre, bien rangé et à l'abri des nuisibles

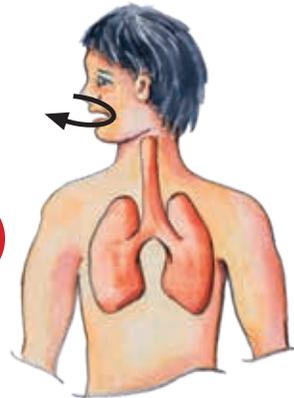
Approvisionnement



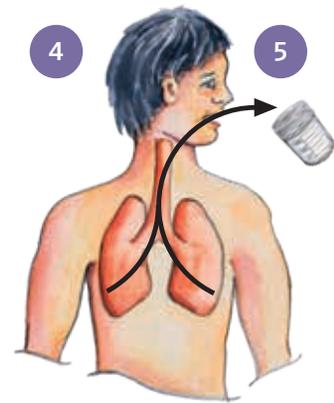
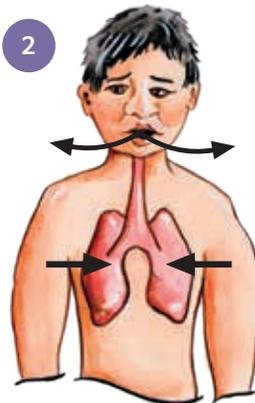
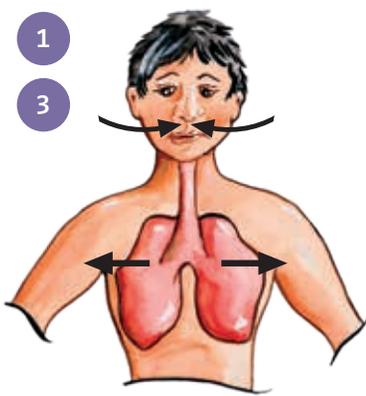
Il est essentiel que les services d'achat ne se procurent pas de récipients de mauvaise qualité simplement parce qu'ils sont moins chers.



Dans les poumons



Pas le nez ni la bouche



- 1 Prendre une grande respiration
- 2 Expirer ensuite très fortement
- 3 Refaire la même chose
- 4 La troisième fois, tousser profondément à partir de la poitrine
- 5 Placer le récipient ouvert près de la bouche pour recueillir l'expectoration

Il peut être demandé de renouveler d'opération pour obtenir un meilleur échantillon

Bien visser le couvercle

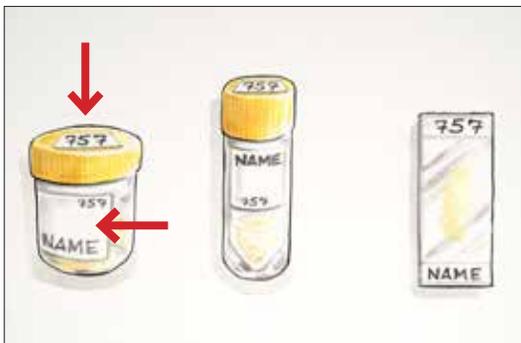


DE BONS ÉCHANTILLONS - UN DIAGNOSTIC PRÉCIS

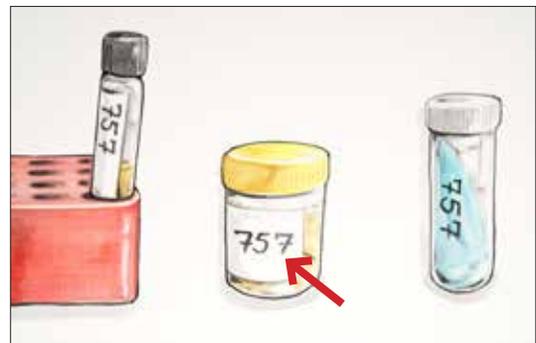
L'étiquetage doit être

- rédigé clairement
- dans le cas du verre dépoli, réalisé avec un stylo **et non** un marqueur indélébile
 - L'écriture au marqueur indélébile s'enlève au solvant
- Marqueur indélébile pour les récipients contenant des échantillons et des milieux
- Utiliser au moins un identifiant unique pour chaque patient
 - NRL
 - Une option supplémentaire consiste à inclure également les quatre premières lettres du nom de famille du patient

Écrire toujours sur le côté du récipient, jamais seulement sur le couvercle. Écrire sur le côté et sur le couvercle est acceptable.



Meilleur étiquetage -
récipient et couvercle



Bon étiquetage du récipient
uniquement - pas seulement
du couvercle



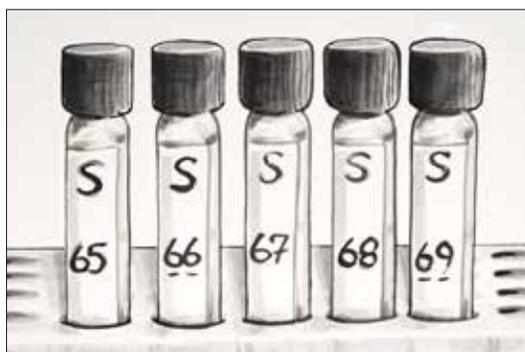
Étiqueter chaque tube



Pas seulement le
premier tube du portoir



Pour les récipients réutilisables, s'assurer que les anciennes étiquettes ont été enlevées



Souligner les nombres pour en assurer la lecture correcte

66 99 901 106

Noter que les tubes sont dans l'ordre croissant des NRL (de gauche à droite)

Pour les nombres qui peuvent être lus de la même manière (par exemple 66 ou 99 ; 106 ou 901), souligner le nombre pour indiquer le sens de lecture.

Travailler avec des échantillons



Un certain nombre de mesures peuvent être prises pour minimiser le risque d'erreurs de transcription au cours du processus de diagnostic.

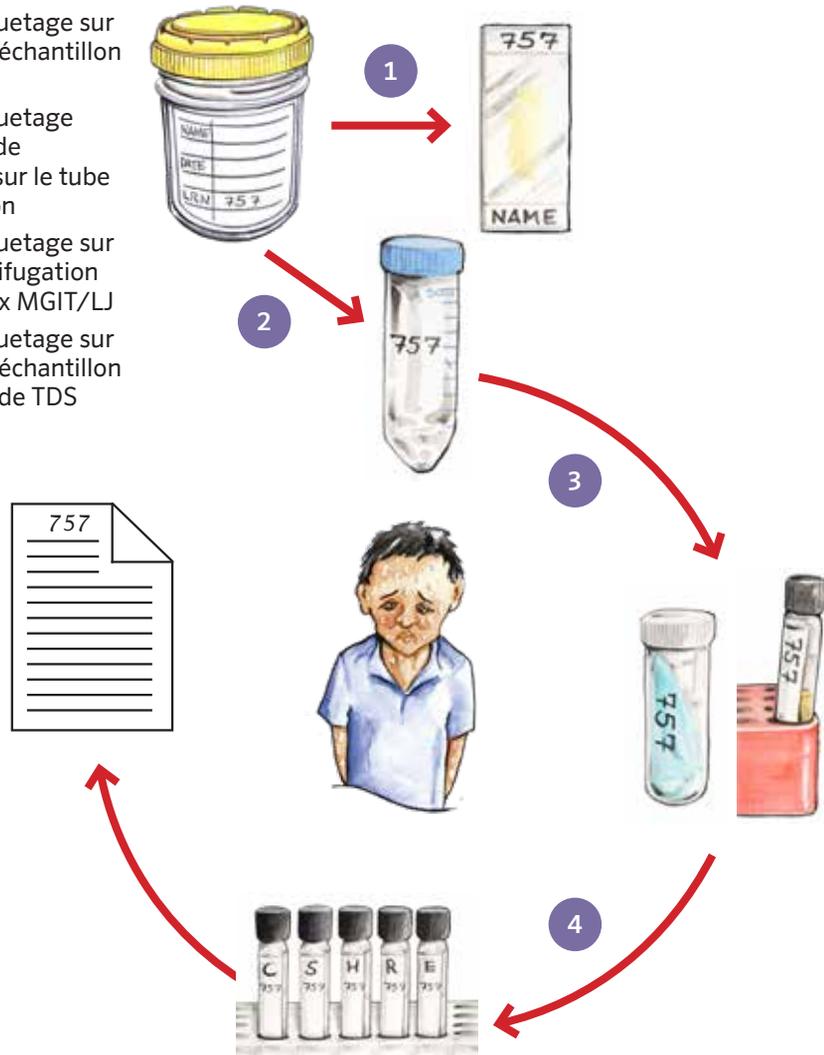
Appliquer toujours les mesures suivantes

- Placer les récipients à échantillons, les tubes à centrifuger et les milieux dans un portoir par NRL croissant, du plus petit à gauche au plus haut à droite
- S'assurer que le NRL est clairement visible ; certains portoirs peuvent couvrir le NRL si l'étiquette n'est pas idéalement située sur le tube
- Avant de transférer l'échantillon ou une partie de celui-ci, comparer le nom et/ou le numéro figurant sur le récipient de l'échantillon avec le numéro figurant sur la lame, le tube de culture ou le kit de test

- Si les tubes sont réutilisables, s'assurer que l'étiquetage précédent a été enlevé pendant le processus de nettoyage
- En cas d'utilisation d'étiquettes adhésives, elles doivent rester sur le récipient, la lame ou le tube, quels que soient les produits chimiques/réactifs utilisés dans le traitement de l'échantillon
 - Attention, certaines étiquettes se décollent

Chaque tube pour les TDS doit être étiqueté avec le NRL et le médicament anti-TB spécifique.

- 1 Comparer l'étiquetage sur le récipient de l'échantillon et sur la lame
- 2 Comparer l'étiquetage sur le récipient de l'échantillon et sur le tube de centrifugation
- 3 Comparer l'étiquetage sur le tube de centrifugation et sur les milieux MGIT/LJ
- 4 Comparer l'étiquetage sur le récipient de l'échantillon et sur les tubes de TDS



TOUS LES TUBES DOIVENT ÊTRE ÉTIQUETÉS AVANT D'ÊTRE UTILISÉS

Faux positifs - Conséquences

- Les patients sont traités inutilement
- Le traitement peut être poursuivi plus longtemps que nécessaire
- Les médicaments seront gaspillés

Faux négatifs - Conséquences

- Les patients atteints de TB peuvent ne pas être traités, ce qui entraîne une aggravation de la maladie, une progression de la maladie ou la mort
- Un patient dont le frottis est positif et non traité peut infecter 10 à 15 autres personnes chaque année

Résumé

Les erreurs de laboratoire dues à un mauvais suivi des échantillons peuvent entraîner des résultats faux-positifs ou faux-négatifs qui peuvent avoir des conséquences catastrophiques pour un individu, sa famille, ses amis et sa communauté.

Les désinfectants sont des produits chimiques capables de tuer la plupart des microorganismes présents sur une surface ou dans une solution. La paroi cellulaire à forte teneur en acides gras des espèces de *Mycobacterium*, dont MTB, les rend moins affectées par certains désinfectants. Le choix du désinfectant dépend du matériau à désinfecter, de la durée d'exposition et des avantages/inconvénients relatifs d'un désinfectant.

Alcools

Les alcools endommagent la membrane et précipitent ou coagulent les protéines. Cependant, les alcools sont inefficaces contre MTB en présence de protéines dans des échantillons tels que les expectorations.

Dans les expectorations, les protéines sont coagulées et cela peut protéger MTB d'un contact efficace avec l'alcool. En conséquence, les alcools ne sont pas adaptés à la désinfection des expectorations.

Ils ne doivent pas être utilisés pour inactiver des suspensions de MTB ou d'autres espèces de *Mycobacterium* étant donné que des agents plus efficaces, tels que les chlorines et les phénoliques, sont disponibles.

Une solution d'alcool à 70 % v/v (éthanol dénaturé, alcool méthylique) qui est approximativement équivalente à une solution d'isopropanol à 70 % v/v peut être utilisée pour la désinfection de routine des paillasse de laboratoire et des ESB. Concernant les ESB, elle ne doit pas être pulvérisée ou utilisée sous forme d'aérosols en raison du risque d'incendie.

Il n'y a pas d'action résiduelle après l'évaporation de l'alcool.



L'ALCOOL À CETTE CONCENTRATION EST INFLAMMABLE



NE PAS UTILISER DE DÉSINFECTANTS À BASE D'ALCOOL SUR LES ÉQUIPEMENTS SUSCEPTIBLES DE PRODUIRE DES ÉTINCELLES - RISQUE D'INCENDIE !



Phénol

Les phénols modifient la perméabilité des membranes cellulaires, ce qui entraîne la lyse des cellules.

Le phénol (acide carbolique) est un désinfectant bien établi pour les laboratoires de mycobactériologie. Les substances phénoliques « brutes » ont une forte odeur, sont irritantes pour la peau, les yeux et les muqueuses et très corrosives. En revanche, les phénols synthétiques ne provoquent pas ces irritations. L'ingestion de substances phénoliques de tout type est toxique pour les êtres humains.

Les matières organiques telles que les protéines ont un effet minimal sur les désinfectants à base de phénols et sont affectées à un degré moindre que les désinfectants à base de chlore. Les phénols synthétiques sont principalement utilisés dans des récipients de déchets au sein d'une ESB et comme alternative aux désinfectants à base d'alcool et de chlore.

Préparer des solutions de phénol à 5 % tous les 2 ou 3 jours. La précision de la dilution des substances phénoliques est importante car de petites erreurs peuvent entraîner des variations d'activité importantes.



Chlore

Le chlore est un agent oxydant très actif responsable de l'inactivation des activités enzymatiques des protéines. Il peut également endommager l'ADN bactérien et arrêter sa synthèse.



Les désinfectants à base de chlore sont largement disponibles, le plus notable étant peut-être l'eau de Javel à usage domestique dont l'hypochlorite de sodium est le principal composé. L'hypochlorite de sodium n'est disponible que sous forme de liquide préparé en mélangeant du chlore avec du chlorure de sodium. La solution est très alcaline et corrode les métaux, y compris l'acier inoxydable. Le chlore réagit rapidement avec les matières organiques et, dans ces conditions, la concentration doit être suffisamment élevée pour fournir une concentration résiduelle efficace de chlore permettant d'inactiver les mycobactéries.

Des solutions de chlore à 0,5 à 1,0 % doivent être préparées quotidiennement. Pour les bacs à déchets, une concentration plus élevée de désinfectant est ajoutée de sorte que la dilution du chlore soit correcte après le remplissage. S'il est utilisé pour des bacs à déchets ou pour nettoyer des déversements infectieux, le matériel ne doit pas être autoclavé car le chlore gazeux produit endommagera rapidement l'équipement.

Si le chlore est utilisé pour désinfecter des surfaces métalliques telles qu'une ESB, un rinçage par essuyage à l'eau stérile ou à l'alcool à 70 % v/v est nécessaire.

Applications recommandées pour les désinfectants

Infrastructures/ équipements de laboratoire	Désinfectant principal	Sélection d'alternatives
Nettoyage de routine des paillasses	Alcool à 70 % v/v	Phénol synthétique à 5 %
Nettoyage de routine des ESB	Alcool à 70 % v/v	Phénol synthétique à 5 % ou solution de chlore à 0,5 - 1 % plus de l'eau pour essuyer ensuite
Bacs à déchets au sein de l'ESB	Phénol synthétique à 5 %	Solution de chlore à 0,5 - 1 %
Déversement dans le godet de sécurité de la centrifugeuse	Désinfectant non recommandé Autoclave à 121 °C pendant 15 minutes	Si un désinfectant doit être utilisé, attendre 15 minutes, puis ouvrir dans une ESB et utiliser du phénol synthétique à 5 %
Déversements à l'intérieur d'une ESB*	Phénol synthétique à 5 %	Des solutions de chlore à 0,5 - 1 % et de l'eau pour essuyer ensuite
Déversements en dehors d'une ESB*	Phénol synthétique à 5 %	Des solutions de chlore à 0,5 - 1 % et de l'eau pour essuyer ensuite
Équipement	Se référer aux instructions du fabricant	Alcool à 70 % v/v si aucun risque d'inflammation n'est identifié

* Voir le chapitre 10 pour la procédure de nettoyage

Utilisation d'un désinfectant et temps de contact

Désinfectant	Concentration et temps de contact	Commentaires
	Alcools Alcool à 70 % v/v (alcool dénaturé ou alcool méthylé) isopropanol à 70 % v/v Essuyer la surface et laisser sécher	La concentration diminue au fur et à mesure de l'évaporation Pas d'effet résiduel ou de résidu Endommagera le caoutchouc et les plastiques Ne pas utiliser en spray dans les ESB et là où des étincelles peuvent se produire
	Phénols synthétiques Concentration à 5 % 15 minutes pour la désinfection de routine 30 minutes pour les déversements fortement concentrés	N'utiliser que des phénols synthétiques Préparation tous les 2 ou 3 jours Diluer soigneusement les solutions concentrées pour garantir l'activité désinfectante
 	Chlore Solution de chlore à 0,5 - 1 % 15 minutes pour la désinfection de routine 30 minutes pour les déversements fortement concentrés	La concentration diminue avec le temps ; vérifier la date d'expiration Une solution de travail renouvelée chaque jour Les solutions ne doivent pas être passées à l'autoclave Très corrosif pour les métaux, y compris l'acier inoxydable ; en cas d'utilisation, essuyer ensuite avec de l'eau stérile ou de l'alcool à 70 % v/v Diluer soigneusement les solutions concentrées pour garantir l'activité désinfectante Plage de pH optimale de 6 à 8

Désinfectants et risques sanitaires

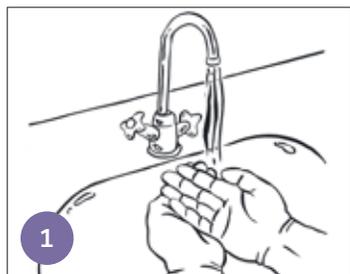
Désinfectant	Risques sanitaires	Commentaires
	Alcools Irritant pour la peau, entraînant des craquelures et des rugosités Inflammable, notamment sous forme de spray	Porter des gants et une blouse à manches longues Ne pas utiliser sous forme de spray Ne pas utiliser en présence d'un risque d'étincelles
	Phénols synthétiques Cancérigène potentiel Toxique en cas d'ingestion	Utilisation dans des endroits bien ventilés uniquement Ne pas ingérer
	Chlore Irritation des poumons, toux due au chlore gazeux irritant pour la peau et les yeux	Protection des yeux contre les éclaboussures, notamment lors de la manipulation de solutions concentrées
		N'utiliser que dans des endroits bien ventilés. Porter des gants et une blouse à manches longues



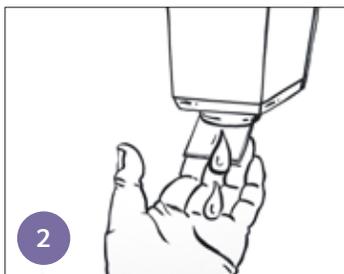
Se laver les mains lorsqu'elles sont visiblement souillées, et avant de quitter le laboratoire

Durée du lavage des mains (étapes 2 à 7) : 15 à 20 secondes

Durée de l'ensemble de la procédure : 40 à 60 secondes



1
Se mouiller les mains avec de l'eau



2
Appliquer suffisamment de savon pour couvrir toutes les surfaces des mains



3
Se frotter les mains, paume contre paume



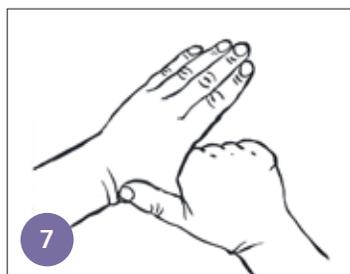
4
Paume droite sur le dos de la main gauche avec les doigts entrelacés et inversement



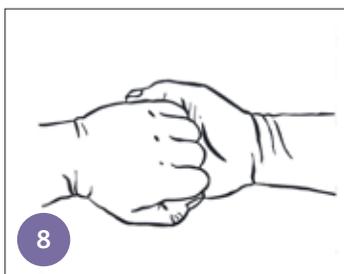
5
Paume contre paume avec doigts entrelacés



6
Dos des doigts aux paumes opposées avec doigts entrelacés



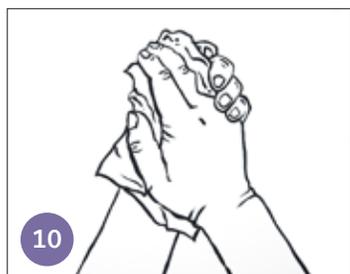
7
Frottement en rotation du pouce gauche serré dans la paume droite et inversement



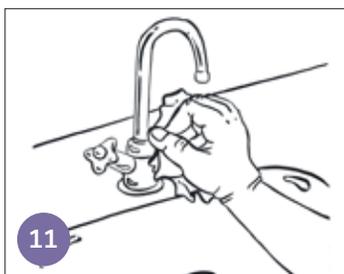
8
Frottement par rotation, d'avant en arrière avec les doigts de la main droite dans la paume de la main gauche et inversement



9
Se rincer les mains à l'eau



10
Se sécher soigneusement les mains avec une serviette à usage unique



11
Utiliser une serviette pour fermer le robinet



12
Vos mains sont désormais en sécurité

Ces sources ont été utilisées pour la préparation du manuel

Association of Public Health Laboratories Tuberculosis Steering Committee (2009). Core TB Laboratory Services for Public Health Laboratories. Washington, DC: Association of Public Health Laboratories.

https://www.aphl.org/programs/infectious_disease/tuberculosis/Documents

Australian/New Zealand Standard 2243.3: 2010 Safety in laboratories – Part 3: microbiological safety and containment. Standards Australia Limited and Standards New Zealand. ISBN 978 0 7337 6996 2

Australian Standard 2252.4: 2010 Controlled environments – Part 4: biological safety cabinets Classes I and II – Installation and use (BS 5726:2005, MOD).

Best M, Sattar SA, Springthorpe VS, Kennedy ME. Efficiencies of selected disinfectants against *Mycobacterium tuberculosis*. J Clin Microbiol 1990; 28 : 2234-2239.

Coriell LL, McGarrity GJ. Biohazard hood to prevent infection during microbiological procedures. Appl Microbiol 1968; 16: 1895-1900.

European Centre for Disease Prevention and Control (2016). Handbook on TB laboratory diagnostic methods for the European Union, Stockholm: ECDC.

<http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/publications/tuberculosis-laboratory-diagnosticmethods-eu.pdf>

European Committee for Standardization. Laboratory biorisk management standard. (ICS 07.100.01; CWA 15793:2011 D/E/F). Brussels: European Committee for Standardization. http://www.uab.cat/doc/CWA15793_2011

Foundation for Innovative New Diagnostics. Siddiqi SH, and Rüsç-Gerdes S. MGIT procedure manual. 2006. Geneva.

Global Laboratory Initiative. 2015. GLI guide to TB specimen referral systems and integrated networks. <http://www.stoptb.org/wg/gli/gat.asp>.

Global Laboratory Initiative. 2017. Guide for providing technical support to TB laboratories in low- and middle-income countries.

<http://www.stoptb.org/wg/gli/gat.asp>

Global Laboratory Initiative. 2017. GLI Practical Guide to TB Laboratory Strengthening.

<http://www.stoptb.org/wg/gli/gat.asp>.

Global Laboratory Initiative. 2013. Laboratory diagnosis of tuberculosis by sputum microscopy. The handbook. Global edition. http://www.stoptb.org/wg/glii/assets/documents/TB%20MICROSCOPY%20HANDBOOK_FINAL.pdf

Kim SJ, Lee SH, Kim IS, Kim HJ, Kim SK, Rieder HL. Risk of occupational tuberculosis in National Tuberculosis Programme laboratories in Korea. Int J Tuberc Lung Dis 2007; 11: 138-42.

Kurbatova EV, Cavanaugh JS, Shah NS, Wright A, Kim H, Metchock B, Van Deun A, Barrera L, Boulahbal F, Richter E, Martín-Casabona N, Arias F, Zemanova I, Drobniowski F, Santos Silva A, Coulter C, Lumb R, Cegielski JP. Rifampicin-resistant *Mycobacterium tuberculosis*: susceptibility to isoniazid and other anti-tuberculosis drugs. Int J Tuberc Lung Dis 2012; 16: 355-357.

Loudon RG, Roberts RM. Droplet expulsion from the respiratory tract. Am Rev Respir Dis 1967; 95: 435-442.

Macher JM, First MW. Effects of airflow rates and operator activity on containment of bacterial aerosols in a Class II safety cabinet. Appl Env Microbiol 1984; 48: 481-485.

New Zealand Ministry of Health. Guidelines for tuberculosis control in New Zealand 2010. Disponible à l'adresse : <http://www.health.govt.nz/publication/guidelines-tuberculosis-control-newzealand-2010>

Padmapriya BP, Sivasubramani SK, Blakemore R, Boehme C, Perkins MD, Fennelly K, Alland D. Containment of bioaerosol infection risk by the Xpert® MTB/RIF Assay and its applicability to point-of-care settings. *J Clin Microbiol* doi:10.1128/JCM.01053-10

Public Health England 2014. UK Standards for Microbiology Investigations: Investigation of specimens for Mycobacterium species. https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/411244/B_4_0i6.1_UR.pdf

Rake BW. Influence of crossdrafts on the performance of a biological safety cabinet. *Appl Env Microbiol* 1978; 36: 278-283.

Ratnam S, March SB. Effect of relative centrifugal force and centrifugation time on sedimentation of mycobacteria in clinical specimens. *J Clin Microbiol* 1986; 23 : 582-585.

Reider HL, Van Deun A, Kam KM, Kim SJ, Chonde TM, Trebucq A, Urbanczik R. Priorities for tuberculosis bacteriology services in low-income countries. 2007. International Union Against Tuberculosis and Lung Disease (The Union).

Riley RL, Mills CC, Nyka W, Weinstock N, Storey PB, Sulton LV, Riley MC, Wells WF. Aerial dissemination of pulmonary tuberculosis. A two-year study of contagion in a tuberculosis ward. *Am J Hyg*; 1959; 70: 185-196.

US Department of Health and Human Services Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, and the National Institutes of Health. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, 5th edition, 2009. HHS Publication No. (CDC) 21-1112.

Van Soolingen D, Wisselink HJ, Lumb R, Anthony R, Van der Zanden A, Gilpin C. Practical biosafety in the tuberculosis laboratory: containment at the source is what truly counts. *Int J Tuberc Lung Dis*; 2014; 18: 885-889.

World Health Organization. Drug-resistant TB: global situation. <http://www.who.int/tb/areas-of-work/drug-resistant-tb/global-situation/en/>

World Health Organization. Tuberculosis laboratory biosafety manual. WHO/HTM/TB/2012.11. Geneva, WHO, 2012. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/77949/1/9789241504638_eng.pdf

World Health Organization. Global tuberculosis report 2018. WHO/CDS/TB/2018.20. http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/, accessed 14 December 2018.

