

Danger et risque:

Danger: ensemble de caractéristiques particulières qui ne peuvent être modifiées.

Ex: Substance pouvant déclencher un incendie, pathogène

Risque: « résultante » du danger.

Peut-être minimisé par une adaptation des conditions d'utilisation.

s'informer des dangers provenant du matériel ou des substances utilisées

choisir et appliquer des mesures de prévention

prévoir des consignes et des moyens à mettre en œuvre en cas d'accident

Drugs & Toxins: biological products

- Infotox : <http://www.toxi.ch/start.html>
01 251 51 51 (24 hr/hr)
- Swissmedic : pharmacovigilance
- The ricin story : **1 μg / kg** (mice ip)
- S'informer AVANT de commencer:
toxine diphtérique

Biohazards: organisms

- Diagnostic versus growth
- human samples: EBV, HBV, HCV, HIV
only EBV⁺ people, vaccination (HBV)
- protection: gloves, labcoats, glasses, masks
- decontamination: bleach, autoclave, formol vapour
- max spill containment: enough paper/towels

Biohazards: growing organisms

- Genetically modified organisms and pathogens
- Classification (conservative)
 - class 1: proven not to be dangerous
 - class 2: not dangerous (healthy people)/little propag.
 - class 3: dangerous/propagation in population
 - class 4: deadly dangerous /highly contagious

Classements des microorganismes:

- Classe 1: activité à risque nul ou négligeable (*E. coli* K12, *S. cerevesiae*)
- Classe 2: activité à risque faible (*E. coli*, *Aspergillus flavus*, *Influenza virus*)
- Classe 3: activité à risque modéré (*Bacillus anthracis*, Hépatite C)
- Classe 4: activité à risque élevé (*Virus de Lassa*, *Virus d'Ebola*)

Règles d'or (GLP)

- Paillasse tenue propre et en ordre
- Pas d'aliments, de boissons, de cigarettes
- Port de blouse uniquement dans les laboratoires
- Port de gants uniquement dans les laboratoires
- **Lavage des mains avant et après la manipulation**
- Connaître le produit utilisé
- **Interdit de pipeter avec la bouche**
- Aiguilles, scalpels à éviter, et les jeter dans des boites spéciales sans les rebouchées
- Identité des souches pathogènes régulièrement contrôlées
- Eviter le plus possible la création d'aérosols
- Présence d'un évier
- Rongeurs, cafards...

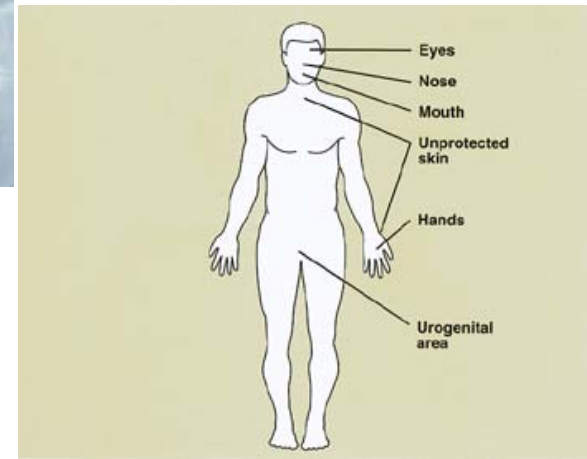
Impact of non-compliance

Laboratory acquired infections **TODAY**

- Most laboratory acquired infections linked to an identified incident or accident
- Most incidents and accidents linked to bad practices, technical failure or a combination of both

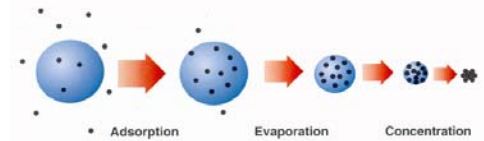
- Main causes of infections:

1. Needle stick injuries
2. Aerosol producing procedures
3. Bites and scratches...
4. Contact with mucous membrane
5. Ingestion

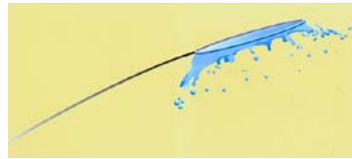


Aerosols

- Minute respirable infectious airborne particles
 - Droplets $< 5\mu\text{m}$ reach alveoli of the lung
 - Particles $> 5\mu\text{m}$ reach mucous membrane of airways



- Disposition of larger heavy droplets onto surfaces, equipment, personnel



- Loop
- Pipetting
- Spilling drops on hard surfaces
- Blenders, homogenizers, shakers, sonicators, mixers



Voies d'entrée possible du matériel biologique

- Voie oro-respiratoire

Pipetage à la bouche

Respiration d'air contaminé

- Utilisation de centrifugeuses sans nacelles étanches.
- Utilisation d'agitateurs, sonicateurs, broyeurs, mortiers.
- Agitation d'une culture, aspiration, refoulement.
- Transvasement de liquides et décantation de surnageants.
- Projection lors de distribution de réactifs.
- Stérilisation par la flamme de l'anse de platine ayant servi à prélever des colonies microbiennes (manipulation à proscrire).
- Goutte de suspension microbienne tombée sur le plan de travail.
- Tubes cassés ou renversés.

- Voie cutanée

- Auto-inoculation par piqûre avec une aiguille, une pipette,...
- Blessures cutanées avec du verre cassé et contaminé.
- Infection par l'intermédiaire de blessures ou de lésions cutanées non protégées.

- Voie conjonctivale

- Projection d'éclaboussure, d'aérosols ou de pulvérisations

Laboratory acquired infections LAI

- Decrease in LAI due to:
 - Increased awareness
 - Safety training
 - Safe work practices (personal protective equipment)
 - Safety equipment (biosafety cabinets)
 - Well-designed facilities (ventilation systems)
- Decrease in LAI in research laboratories more significant than in diagnostic laboratories
 - Unknowns in clinical specimens might lead to not using adequate containment procedures
 - Recognition and isolation of new pathogens often linked to LAI
 - Shift from bacteria (antibiotics) to virus (HBV most frequent).

Laboratory acquired infections LAI

- Personnel at risk:
 - Diseases, drugs conditions that alter immune system
 - Allergic hypersensitivity (antibiotics, vaccination)
 - Pregnant women
 - Men 20 – 29
 - *Low opinion of safety program*
 - *Work fast*
 - *Take excessive risks*
 - 65 % due to human error
 - 20 % equipment problems
 - 15 % ,unsafe acts‘

Laboratoire correspondant au classement des risques:

Classe 1 = P1

Tous les laboratoires du CMU

Classe 2 = P2

- Laboratoire indiqué avec le sigle « Biohazard »
- Porte et fenêtre fermées pendant la manipulation
- Si présence d'aérosols, travail sous hotte à flux laminaire
ne rejetant rien dans l'atmosphère
- Les surfaces de travail doivent être désinfectées après le travail
- Tout appareil en contact avec les microorganismes sera autoclavé ou désinfecté avant d'être lavé, les déchets traités étant ensuite autoclavés

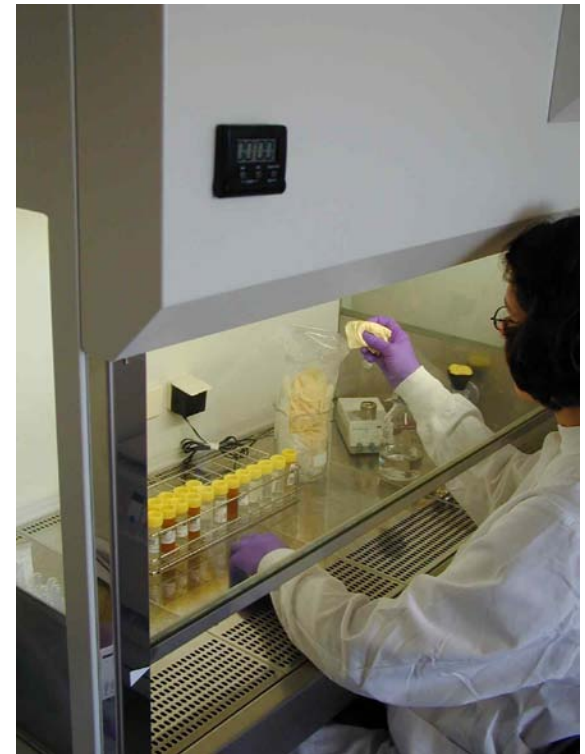
LISTE des personnes autorisées sur la porte

Procédure en cas d'incident: assez de papier pour éponger!

Procédure de décontamination, fréquence et personne responsable

What is a biosafety cabinet (BSC)?

- Biosafety cabinets (BSC) are equipment that have been specially designed to *protect* the operator and the environment from *infectious aerosols* during working procedures
- Main protective features:
 - Airflow patterns as protective barriers
 - HEPA filters to retain particles
 - Some direct containment features



Classe 3 = P3

- Double sas entre le laboratoire et le bâtiment
- Toutes les surfaces seront lisses et faciles à nettoyer
- Les personnes devront être visibles à travers des fenêtres
- Une pression négative (6 mm de Hg) sera réalisée
- L'air passera sur un filtre arrêtant 99.999% des particules de plus de 0.3 μm
- Aucun raccordement avec l'extérieur
- Tout matériel contaminé devra être autoclavé avant de sortir du P3
- Uniquement des vêtements destinés au P3 seront portés
- Tous les documents, notes seront désinfectés avant leur sortie
- Les membres devront eux-mêmes organiser la lutte contre les rongeurs et les insectes
- Les matériaux biologiques sortant qui sont viables devront être placés dans un récipient incassable et scellé, lui-même placé dans un deuxième récipient

Classe 4 = P4

Ce niveau exceptionnel n'est pas rencontré à Genève (sauf diagnostique HUG)

Training problem

- Stagiaires
- Apprentices
- Students

High turnover!

- Post-docs (they can help train!)
- Laborantin(e)s : cahier des charges, (L3?)

Nettoyage



1 - Après rangement du matériel et gestion des déchets de la manipulation, mettre du détergent sur la paille.



2 - Eliminer ce détergent (tensio-actif) à l'aide d'un papier absorbant, porter des gants de ménage.



3 - Jeter le papier souillé dans un conteneur à déchets.



4 - Rincer la paille à l'eau et essuyer à l'aide d'un papier jetable.

Désinfection



5 - Mettre alors du désinfectant, l'étendre et le laisser agir.



6 - Enlever le désinfectant avec un papier jetable et rincer la pailleasse.

Principaux Décontaminant

Décontamination à l'eau de Javel

Spectre d'activité

™ Bactéries +++

™ Spores, mycobactéries ++

™ Champignons, virus +

L'activité est partiellement inhibée par les protéines (+++) et l'eau calcaire (+)

Incompatibilités chimiques:

Incompatible avec les acides forts (production de Cl_2), les détergents cationiques, le formaldéhyde en solution concentrée.

Toxicité:

Caustique (solution à 48° chlorimétriques); modérément irritant pour la peau, les yeux et les voies respiratoires (solutions diluées). Port de gants et de lunettes pour la manipulation de la solution concentrée.

Décontamination à l'éthanol

Spectre d'activité

™ Bactéries et mycobactéries +++

™ Virus enveloppés +

™ Spores, champignons, virus non enveloppés -

Son action est peu sensible à la présence de protéines.

Incompatibilités

Incompatible avec les oxydants forts (dichromates, permanganates, perchlorates, eau oxygénée en solution concentrée), et les hypochlorites (eau de Javel en solution concentrée).

Toxicité

Irritant pour les yeux

Utiliser une solution aqueuse à 70 % pendant 15 minutes pour décontaminer par exemple les plans de travail ou les pots et rotors de centrifugation.

How to deal with incidents/ accidents

- Procedure is part of “quality control”
- **All** incidents should be reported: teaching value
- In 2002 : 2 serious events in UNIGE
 - discard old stuff upon retirement, promotion...
 - label all flasks
- “consultant d’étage” must be trusted by all

En cas d'accident

En cas de coupure ou de piqure

| Laver aussitôt au savon liquide neutre ou savon de Marseille pendant au moins trois minutes

| Rincer soigneusement

| **Désinfecter** pendant 15 minutes au moins avec:

- De l'alcool à 70°

- De l'eau de Javel diluée au 7ème

| Consulter un médecin

En cas de projection sur la peau

| Laver aussitôt à l'eau courante ou avec la douche de sécurité à jet diffus pendant **15 minutes au moins**.

| Consulter un médecin

En cas de projection dans l'œil

| Laver aussitôt à l'eau courante pendant **15 minutes au moins** en écartant bien les paupières tête inclinée, et **l'œil atteint positionné vers le bas**

| Ne pas enlever les lentilles cornéennes

| Ne pas neutraliser

| **Ne pas utiliser de collyre ou solution oculaire**

| Consulter un ophtalmologiste

The main steps of emergency procedures

1. ALERT

- Make people aware
- Call for help if needed

2. SECURE / ORGANISE

- Evacuate if needed (aerosols !)
- Organise the intervention (who does what...)
- Prepare appropriate PPE and material (spill kits !)

3. DECONTAMINATE

4. CLEAN UP and eliminate waste according to procedures

5. NOTIFY to lab head and BSO

Décontamination à la Glutaraldehyde

Spectre d'activité

Bactéries +++

™ Champignons, mycobactéries, spores, virus ++

Son action n'est pas sensible à la présence de protéines; elle est maximale à pH alcalin, mais le produit se dégrade alors en moins de deux semaines.

Incompatibilités

Incompatible avec les bases fortes, oxydants forts (permanganates, dichromates). Les solutions alcalines de glutaraldéhyde réagissent avec l'éthanol, les cétones, les amines et hydrazines.

Toxicité

Fortement irritant pour la peau, les yeux et les voies respiratoires même en solution diluée. Allergisant essentiellement de type cutané (dermatite de contact), mais aussi respiratoire (rhinites, asthme). Préparer les dilutions avec des gants et sous hotte. Cette décontamination s'utilise surtout sur du matériel métallique (ne supportant pas la javel) ou le matériel non autoclavable. Employer une solution de glutaraldéhyde 2%, bicarbonate de sodium 0,3%, en trempage au minimum pendant 15 minutes, et 2 heures au moins s'il s'agit d'inactiver des spores.

Opérer par trempage dans un bac avec couvercle et sécher dans un local bien ventilé ou sous hotte.