

BIOSÉCURITÉ ET BIOSÛRETÉ AU LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE VÉTÉRINAIRE ET DANS LES ANIMALERIES

INTRODUCTION

Le travail de laboratoire décrit dans ce Manuel terrestre doit être réalisé en appliquant des règles de sécurité maximales pour protéger le(s) travailleur(s) (biosécurité) et l'environnement (bio-confinement). La biosécurité implique l'évaluation du risque généré par une procédure particulière, suivie par les mesures appropriées pour minimiser les risques de contamination humaine et de diffusion possible dans le milieu extérieur. Le sujet est complexe et seules des considérations générales pourront être abordées dans ce chapitre introductif. Ce chapitre considère uniquement les risques générés à partir d'agents infectieux, mais les risques chimiques et physiques devront être également prévenus dans les laboratoires de microbiologie. Les risques de contamination sont réduits par les bonnes pratiques de laboratoire et des équipements sûrs permettant d'assurer un confinement des agents pathogènes. Il est important de comprendre que le confinement des agents pathogènes peut être utilisé pour atteindre un double objectif. L'un consiste à éviter la transmission d'une maladie à l'homme au laboratoire, l'autre à prévenir la diffusion d'agents pathogènes dans le milieu extérieur pouvant entraîner des maladies chez les animaux ou les humains. Souvent les mêmes stratégies de confinement peuvent être utilisées pour empêcher les infections contractées au laboratoire et pour éviter toute diffusion d'agents pathogènes qui pourrait provoquer des épizooties. Bien que les méthodes, les techniques, les équipements puissent être identiques, la liste des agents pathogènes et leur classement dans une catégorie de risque différeront selon que l'objectif prioritaire est le contrôle des maladies humaines ou animales.

Les Laboratoires de référence nationaux ou internationaux ont une expérience importante dans les règles de biosécurité adaptées aux agents pathogènes étudiés et aux dispositions et équipements nécessaires pour manipuler ces agents pathogènes. Quand de nouveaux laboratoires sont créés, il est conseillé de demander l'avis des autorités réglementaires concernées, des autorités compétentes de manière générale ainsi que des instituts déjà établies. Il est fondamental de se plier aux exigences réglementaires locales.

A. ÉVALUATION DES RISQUES LIÉS AUX PATHOGÈNES

Il est nécessaire d'évaluer dans un premier temps le risque généré par l'agent pathogène de façon à le classer dans un Groupe de risque. Une évaluation du risque supplémentaire sera réalisée, basée sur le travail précédent, pour estimer le niveau de confinement approprié. Pour évaluer le risque généré par un agent pathogène particulier vis-à-vis des humains et des animaux, il est nécessaire de savoir si la contamination par cet agent pathogène peut provoquer une maladie et être mortelle pour les humains ou les animaux, ou si une épidémie ou une épizootie peut être générée dans la population humaine ou animale lors de la diffusion de l'agent pathogène. Il faut tenir compte d'éléments supplémentaires liés au confinement des agents pathogènes animaux et à la prévention de leur diffusion pouvant générer une maladie dans la population animale. Pour évaluer ces risques, il est nécessaire de connaître l'épidémiologie du micro-organisme et d'autres caractéristiques comme son pouvoir infectieux pour les humains et les animaux, sa stabilité dans l'environnement, sa capacité à infecter par différentes voies et sa sensibilité à des traitements ou prophylaxies spécifiques (1, 2, 5, 6). Il est relativement facile d'obtenir de telles informations quand on travaille avec un agent pathogène connu, mais le problème devient plus complexe pour les laboratoires de diagnostic qui reçoivent du matériel clinique pouvant être infecté par différents agents pathogènes non identifiés, certains étant très dangereux pour la santé humaine ou constituant une menace sérieuse pour les populations animales. Les considérations générales à prendre en compte quand on évalue un risque sont :

1. l'incidence de l'infection humaine ou animale par le micro-organisme étudié ou les micro-organismes apparentés ayant des caractéristiques semblables, l'historique des infections contractées au laboratoire, la dose infectieuse et la gravité de la maladie, la production de toxines ou d'allergènes ;
2. le volume de culture devant être manipulé et la concentration du micro-organisme pouvant être présente (procédures comme la production d'antigène ou de vaccins qui requièrent de grandes quantités de micro-organismes, générant habituellement un risque élevé pouvant saturer les procédures de confinement) ;
3. l'origine de l'échantillon : par exemple des échantillons provenant d'espèces sauvages peuvent contenir des agents pathogènes humains ou animaux habituellement non présents ;
4. l'historique de l'isolat devant être manipulé. Le risque est souvent plus élevé lors de l'isolement primaire d'agents pathogènes ou après un faible nombre de passages par rapport à des agents pathogènes ayant subi de multiples passages. Dans certains cas, le pouvoir pathogène peut être exacerbé lors du passage en culture cellulaire ou lors d'une sous-culture en utilisant différents milieux ;
5. la possibilité de formation d'aérosols doit être prise en considération lors de la manipulation d'échantillons liquides ou par exemple lors du broyage, de l'homogénéisation et de la centrifugation ;
6. le risque que le micro-organisme peut générer pour les animaux de rente ou les animaux de compagnie ou la faune sauvage, indépendamment du risque pour le personnel du laboratoire. Des précautions supplémentaires de manipulation et de stockage sont nécessaires pour les agents de maladies animales provenant de pays étrangers ;
7. l'état de santé des travailleurs. Par exemple, des précautions particulières peuvent être nécessaires dans le cas d'une femme enceinte ou d'une personne immunodéficiente ou allergique. Parfois, certains individus doivent être retirés de postes de travail particuliers qui pourraient être spécialement dangereux pour eux ;
8. un niveau élevé de risque peut survenir lorsque des agents pathogènes comme *Brucella* ou *Mycobacterium* sont inoculés à des animaux. Pour évaluer l'impact d'une inoculation à l'animal, une évaluation du risque doit être effectuée et les facteurs suivants doivent être pris en considération :
 - a) espèce hôte *versus* espèce inoculée,
 - b) souche/traitement et concentration de l'inoculum,
 - c) voie d'inoculation,
 - d) hébergement des animaux,
 - e) types de prélèvement au cours de l'expérimentation.
9. Certains agents pathogènes ont besoin pour leur transmission de vecteurs spécifiques ou ont besoin d'hôtes intermédiaires pour terminer leur cycle évolutif avant de pouvoir infecter des animaux et causer des maladies. Dans les pays où de tels vecteurs ou hôtes intermédiaires n'existent pas, ou dans lesquels les facteurs climatiques ou environnementaux ne favorisent pas leur survie, ces agents pathogènes représentent un risque plus faible pour la santé animale que dans les pays où ces vecteurs ou hôtes intermédiaires sont naturellement présents ou pourraient survivre.

B. CLASSIFICATION DES MICRO-ORGANISMES BASÉE SUR LES RISQUES POUR LA SANTÉ HUMAINE OU ANIMALE

Les considérations précédentes ont été prises en compte par plusieurs autorités nationales pour classer les micro-organismes dans 4 Groupes de risque (2, 4), représentant un risque graduel pour la santé humaine. Une telle classification des agents pathogènes ne prend pas en considération les personnes qui sont particulièrement sensibles, comme par exemple les personnes malades, les immunodéficients ou les femmes enceintes. Les 4 Groupes peuvent être résumés ainsi :

Groupe 1 – Micro-organismes ayant peu de risque de provoquer une maladie humaine ou animale ou qui causent des maladies enzootiques mais non soumises à un contrôle officiel.

Groupe 2 – Micro-organismes pouvant provoquer une maladie humaine ou animale, mais ne diffusant pas ou peu dans les populations et pour laquelle une prophylaxie et un traitement efficaces sont disponibles ; exemples d'agents pathogènes animaux du Groupe 2 :

- i) Micro-organismes ne dépendant pas de vecteurs ou d'hôtes intermédiaires pour leur transmission ;
- ii) La transmission entre différentes espèces animales est limitée ou absente ;
- iii) En cas de sortie du laboratoire, la diffusion géographique est limitée ;
- iv) La transmission directe d'animal à animal est limitée ;
- v) La transmission est réalisée essentiellement par ingestion, inoculation ou à travers les muqueuses ;
- vi) La nécessité d'isoler les animaux malades ou infectés n'est pas absolue ;
- vii) La gravité clinique ou l'impact économique de la maladie sont limités ;
- viii) Les micro-organismes ne peuvent pas survivre longtemps dans le milieu extérieur et un traitement ou une prophylaxie efficaces sont disponibles ;
- ix) Les micro-organismes peuvent être enzootiques ou exotiques, mais ils font l'objet d'un contrôle officiel et ne présentent qu'un risque faible de diffusion hors du laboratoire.

Groupe 3 – Micro-organismes causant des maladies humaines ou animales graves et pouvant diffuser dans les populations, mais pour lesquelles il existe habituellement une prophylaxie et un traitement efficaces ; exemples d'agents pathogènes animaux du Groupe 3 :

- i) Les micro-organismes dépendent de vecteurs ou d'hôtes intermédiaires pour leur transmission ;
- ii) La transmission entre différentes espèces animales est possible ;
- iii) En cas de sortie du laboratoire, la diffusion géographique est modérée ;
- iv) La transmission directe d'animal à animal peut facilement survenir ;
- v) L'isolement réglementaire des animaux malades, infectés ou ayant été en contact est indispensable ;
- vi) La gravité ou l'impact économique de la maladie ne sont pas négligeables ;
- vii) Des traitements ou des mesures de prophylaxie ne sont pas facilement disponibles ou, quand ils existent, n'offrent qu'un bénéfice limité ;
- viii) La transmission peut se réaliser par voie aérienne ou par contact direct ;
- ix) Les micro-organismes peuvent être enzootiques ou exotiques, mais ils font l'objet d'un contrôle officiel et ne présentent qu'un risque modéré de diffusion hors du laboratoire.

Groupe 4 – Micro-organismes causant des maladies humaines ou animales gravissimes avec un fort risque de diffusion dans les populations et pour lesquelles il n'existe pas de prophylaxie ou de traitement efficace.

- i) Les micro-organismes peuvent dépendre de vecteurs ou d'hôtes intermédiaires pour leur transmission ;
- ii) La transmission entre différentes espèces animales peut aisément se réaliser ;
- iii) En cas de sortie du laboratoire, le micro-organisme peut avoir une large diffusion géographique ;
- iv) La transmission directe d'animal à animal est très facile ;
- v) Les micro-organismes peuvent être transmis par contact direct de courte durée ou indirectement ;
- vi) L'isolement réglementaire des animaux malades, infectés ou ayant été en contact est obligatoire ;
- vii) Un contrôle réglementaire des mouvements des animaux sur de grandes distances est nécessaire ;
- viii) La gravité clinique de la maladie ou son impact économique sont extrêmement sévères ;
- ix) Aucun traitement n'est disponible, non plus que des mesures de prophylaxie satisfaisantes ;
- x) Le risque de sortie du laboratoire et de diffusion dans le milieu extérieur et la population animale du pays est très élevé.

Les agents infectieux qui peuvent être rencontrés au laboratoire ont été regroupés en 4 Groupes de risque allant de 1 à 4 par les autorités de nombreux pays (2, 4). Quelques exemples d'agents pathogènes dangereux pouvant être rencontrés dans un laboratoire vétérinaire et entraîner des maladies chez les humains, sont listés dans le

tableau 1. Quelques agents pathogènes graves de niveau 4, comme les virus Hendra ou Nipah, ont été isolés à partir de prélèvements dans des laboratoires vétérinaires.

Tableau 1. Exemples de micro-organismes des Groupes de risque 2 et 3 et pouvant provoquer une maladie humaine et être présents dans un laboratoire vétérinaire.

Groupe 2

Virus : virus Influenza types A, B, C et autres virus d'influenza aviaire ne nécessitant pas de notification ; virus de la maladie de Newcastle ; virus de l'ecthyma contagieux du mouton (virus parapox).

Bactéries : *Alcaligenes* spp. ; *Arizona* spp. ; *Campylobacter* spp. ; *Chlamydia psittaci* (non aviaire) ; *Clostridium tetani* ; *Clostridium botulinum* ; *Corynebacterium* spp. ; *Erysipelothrix rhusiopathiae* ; *Escherichia coli* ; *Haemophilus* spp. ; *Leptospira* spp. ; *Listeria monocytogenes* ; *Moraxella* spp. ; *Mycobacterium avium* ; *Pasteurella* spp. ; *Proteus* spp. ; *Pseudomonas* spp. ; *Salmonella* spp. ; *Staphylococcus* spp. ; *Yersinia enterocolitica* ; *Yersinia pseudotuberculosis*.

Champignons : *Aspergillus fumigatus* ; *Microsporum* spp. ; *Trichophyton* spp.

Groupe 3

Virus : virus de la rage ; virus de l'encéphalomyélite équine (Est, Ouest et Vénézuélienne) ; virus de l'encéphalomyélite B japonaise ; virus de l'encéphalomyélite écossaise à flavivirus.

Bactéries : *Bacillus anthracis* ; *Burkholderia mallei* (*Pseudomonas mallei*) ; *Brucella* spp. ; *Chlamydia psittaci* (souches aviaires seulement) ; *Coxiella burnetti* ; *Mycobacterium bovis*.

C. EXIGENCES POUR LE TRAVAIL AVEC DES AGENTS INFECTIEUX

1. Agents pathogènes connus

La classe de risque de l'agent pathogène étudié ayant été déterminée, il est ensuite possible de définir le niveau de confinement approprié pour réduire au maximum le risque de maladie humaine ou celui de diffusion de la maladie aux animaux et dans le milieu extérieur. Le niveau de confinement est défini par les équipements et les méthodes de travail mises en œuvre. Les organismes classés dans les quatre Groupes de risque comme précédemment définis, doivent être placés dans un niveau de confinement approprié à des conditions de travail sûres (voir ci-dessous). Les laboratoires utilisent en général un agent de sécurité biologique, responsable d'assurer la manipulation des microorganismes selon le niveau de confinement approprié. L'agent de sécurité doit avoir une formation suffisante et une autorité certaine pour superviser et contrôler tous les points relatifs à la sécurité. Dans les grands instituts comprenant un réseau de laboratoires, il convient de nommer un agent principal de sécurité chargé de superviser et de coordonner les points liés à la sécurité, qui sont exécutés par des agents de sécurité locaux au niveau de chaque site. Les méthodes de travail pour une procédure particulière ou un poste de travail doivent être écrites et facilement accessibles. L'équipe doit être entraînée et complètement informée des risques potentiels pour la santé humaine générés par leur travail et des procédures doivent être mise en place pour noter les incidents ou accidents. Un dossier médical doit être établi pour chaque membre du personnel de laboratoire mentionnant les agents pathogènes auxquels il est susceptible d'être exposé. Dans certains cas, il sera nécessaire de vacciner le personnel vis-à-vis de l'agent manipulé afin d'apporter une protection supplémentaire (par exemple vaccination contre la rage pour le personnel manipulant le virus rabique). Cet acte devra être mentionné dans le dossier médical. De telles informations sont utiles pour le médecin lors d'apparition d'une maladie. Un suivi médical régulier des employés est recommandé, de même que la réalisation de tests appropriés pour le suivi des personnes au contact d'agents pathogènes majeurs comme les agents de la brucellose et de la tuberculose.

De nombreuses informations concernant le confinement des agents pathogènes sont disponibles. Des appareillages sophistiqués et des bâtiments adaptés peuvent être construits pour le confinement des organismes les plus dangereux en suivant les normes, guide de référence et réglementations du pays. Les exigences dépendent du confinement nécessaire, du plus basique au niveau le plus élevé.

Exigences essentielles pour tous les types de travail au laboratoire. Les exigences essentielles pour un travail au contact d'un agent infectieux, quoiqu'apparemment inoffensif, sont décrites ci-dessous :

1. le laboratoire doit être facile à nettoyer, avec des surfaces imperméables et résistantes aux produits chimiques. Chaque laboratoire doit disposer d'un lave-mains, d'une douche d'urgence, incluant un bain oculaire comme c'est le cas pour les produits chimiques et autres risques de laboratoire. Des procédures

- doivent être établies pour un nettoyage fréquent et une désinfection pendant et à la fin d'une période de travail ;
2. les accès au laboratoire doivent être restreints au seul personnel ; des mesures de sécurité appropriées telles que l'accès électroniquement contrôlé peuvent se révéler nécessaires pour les agents pathogènes à haut risque ;
 3. des vêtements de protection individuels comme les blouses de laboratoire à manches longues, des chaussures fermées, des gants à usage unique, des masques, des lunettes de protection et des respirateurs oro-nasaux appropriés doivent être portés au laboratoire et quittés à la sortie du laboratoire ;
 4. la porte du laboratoire doit être fermée quand le travail est en cours de réalisation et une ventilation doit permettre une extraction de l'air à partir de la pièce (quand des enceintes de biosécurité sont utilisées, l'équilibre des flux doit être parfaitement ajusté) ;
 5. nourriture (y compris chewing-gum, bonbons, pastilles pour la gorge, etc.) ou boisson ne doivent pas être conservées ou consommées dans les laboratoires ;
 6. il est interdit de fumer et de se maquiller dans un laboratoire ;
 7. il est interdit de pipetter avec la bouche ;
 8. il faut toujours minimiser les aérosols ;
 9. des programmes de réponse urgente doivent être développés pour traiter les risques biologiques. Certains des articles mentionnés dans le programme doivent inclure la mise à disposition d'un désinfectant efficace pour nettoyer les couloirs, enlever et décontaminer les vêtements de protection contaminés, laver les mains, et nettoyer et désinfecter les plans de travail ;
 10. la verrerie de laboratoire et tout autre matériel contaminé doivent être stockés sans générer de risques avant leur désinfection. Le matériel devant être éliminé doit être transporté, sans être renversé, dans des récipients à paroi renforcée. Les déchets doivent être autoclavés, incinérés ou traités par toute autre méthode homologuée avant leur élimination. Le matériel réutilisable doit être décontaminé par une méthode appropriée ;
 11. Aucun matériel infectieux ne doit être éliminé dans les éviers du laboratoire ou tout autre système d'évacuation des eaux usées ;
 12. Tout accident ou incident doit être consigné et enregistré sur le livre de l'Agent de Sécurité.

Niveau de confinement pour les pathogènes du Groupe 2, en plus de ce qui a été décrit précédemment, une hotte de sécurité microbiologique de catégorie I, II ou III, doit être utilisée quand des aérosols sont générés ou lorsque de grands volumes de culture sont manipulés ou lorsqu'il y a un besoin réel de protéger le produit biologique (se reporter à la section D). Des affiches appropriées sont nécessaires sur toutes les portes d'entrée pour indiquer la présence de risque et le nom et le numéro de téléphone de la ou des personne(s) responsable(s). Les consignes de sécurité en cas d'urgence sont affichées dans le laboratoire pour avertir le personnel de la marche à suivre lors de dispersion de l'agent pathogène ou lors de la nécessité d'évacuer le laboratoire en cas d'incendie ou d'une autre urgence.

Niveau de confinement pour les pathogènes du Groupe 3, il est conseillé d'installer le laboratoire dans un site isolé et de restreindre l'entrée à des personnes correctement formées pour le niveau 3. Les consignes de sécurité en cas d'urgence sont affichées dans le laboratoire pour avertir le personnel de la marche à suivre lors de dispersion de l'agent pathogène ou lors de la nécessité d'évacuer le laboratoire en cas d'incendie. Le niveau de confinement de l'OIE pour les agents pathogènes du Groupe 3 surpasse les directives du niveau 3 de biosécurité (BSL-3) du Département de Santé et des Services Humains des États-Unis (DHHS) (16) et du Département de l'Agriculture des États-Unis (USDA) (15).

De plus le laboratoire doit être en pression négative et les différentiels de pression doivent être contrôlés ; une procédure doit être développée pour qu'il y ait une alarme en cas de problème et le personnel compétent pour y répondre doit être présent. Un système de ventilation impose un flux d'air du laboratoire vers l'extérieur après un passage sur des filtres absolus du type HEPA. Les filtres HEPA doivent être vérifiés régulièrement (habituellement 1 fois par an) ; en incluant les filtres HEPA des enceintes de biosécurité et les gaz d'échappement des pièces ou équipements. Le laboratoire doit pouvoir être fermé hermétiquement afin d'être stérilisé par fumigation et posséder un sas d'entrée. Il est nécessaire de traiter les effluents en fonction de l'agent pathogène. Des enceintes de biosécurité de Classe I, II ou III doivent être utilisées à chaque fois que le travail prévu risque de générer un aérosol (17). Il peut s'avérer nécessaire que le personnel doive se doucher en sortant du laboratoire, porter des vêtements réservés au laboratoire et laissés dans l'enceinte du laboratoire avant de quitter le bâtiment.

Note : en raison du lien entre l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) et le nouveau variant humain de la maladie de Creutzfeldt-Jakob, l'ESB et les agents liés sont maintenant classés avec les encéphalopathies spongiformes transmissibles humaines dans le Groupe de Risque 3. Par conséquent, les vétérinaires et les

techniciens de laboratoire qui réalisent les autopsies sur les animaux suspectés d'ESB ou manipulant des tissus prélevés sur de tels animaux, doivent travailler dans des conditions strictes de confinement approprié, avec parfois des dérogations permises par la nature du travail et les résultats de l'évaluation du risque local. Il est important que des vêtements de protection appropriés soient portés et qu'un code strict de pratique soit suivi afin de prévenir une exposition à l'agent pathogène. Les laboratoires effectuant des travaux sur l'ESB doivent satisfaire la réglementation nationale de bioconfinement et de biosécurité (3).

Niveau de confinement pour les pathogènes du Groupe 4, les mesures de précaution les plus élevées doivent être prises en incluant des systèmes d'accès par des sas contrôlés avec gradient de pression. Le bâtiment est maintenu sous une pression négative. Les entrées d'air passent sur un seul filtre HEPA et l'air extrait sur une série de double filtre HEPA. Tout travail opéré avec du matériel infectieux doit être réalisé dans des enceintes de sécurité microbiologique de Classe III ou des enceintes de classe II conjointement avec l'utilisation de combinaisons de travail en pression positive. Toutes les eaux usées, les effluents du laboratoire et les effluents d'évacuation d'autoclave doivent être traités par des moyens appropriés pour s'assurer que tout le matériel infectieux soit détruit avant d'entrer dans le système d'évacuation des eaux usées hors du laboratoire. Le personnel doit se doucher et changer de vêtements avant de quitter le bâtiment. D'autres précautions décrites pour le niveau 3 devront également être appliquées. L'utilisation d'un bâtiment unique en pression positive est aujourd'hui une condition internationalement acceptée pour obtenir un niveau 4 de confinement.

Les directives de l'OIE pour le niveau de confinement des pathogènes du Groupe 4 sont, en général, égales à celles du niveau 3 de biosécurité (BSL-3) de l'USDA (15). La principale différence entre les directives du niveau 4 de l'OIE et du BSL-3 spécifie que le laboratoire doit être hermétique et doit passer un contrôle de pression dans le temps pour confirmer qu'il ne dépasse pas le taux de fuite maximal prescrit.

2. Diagnostic d'agents pathogènes

Les laboratoires de diagnostic vétérinaire reçoivent des prélèvements qui sont soumis à diverses analyses pour identifier l'agent pathogène. La nature infectieuse de l'échantillon est généralement inconnue, mais l'existence d'un agent infectieux pouvant contaminer l'homme ou les animaux est toujours possible. Des mesures pratiques et des procédures sont nécessaires pour minimiser le risque d'exposition des travailleurs à de tels pathogènes. À moins qu'un échantillon soit suspecté de contenir un pathogène nécessitant un niveau de confinement supérieur, il est admis que la manipulation d'échantillon biologique doit être réalisée au début de l'analyse dans un niveau de confinement du Groupe 2. Les mesures les plus importantes sont d'empêcher une contamination percutanée ou une exposition des muqueuses. Des enceintes de sécurité biologiques doivent être utilisées pour toutes les manipulations qui peuvent générer des aérosols. Des enceintes de classe I ou II sont appropriées et seront utilisées en fonction du degré de protection des échantillons vis-à-vis d'une contamination. Il n'y aura pas de pipetage à la bouche et des vêtements protecteurs devront être portés ; dans certains cas, les yeux et le système respiratoire pourront être protégés en fonction du niveau évalué de l'exposition. Bien que les procédures initiales de diagnostic puissent être effectuées à un niveau 2 de confinement, lorsqu'un agent pathogène des groupes 3 ou 4 a été isolé (ou suspecté), le travail doit être poursuivi dans un niveau de confinement plus élevé.

D. ENCEINTES DE SÉCURITÉ MICROBIOLOGIQUES

Elles sont utilisées à des niveaux de confinement différents, comme cela est décrit dans la section C. ci-dessus. Elles sont de trois types :

Classe I : enceinte ouverte frontalement et spécialement étudiée pour protéger l'opérateur et le milieu extérieur sans pour autant protéger l'échantillon ou le travail effectué.

Classe II : enceinte de sécurité ouverte frontalement, parfois décrite dans la catégorie : hotte à flux laminaire avec recirculation. Ces hottes sont étudiées pour apporter une protection au manipulateur, à l'échantillon et au milieu extérieur.

Classe III : ces enceintes sont fermées et portent une paire de gants sur leur face avant. C'est le plus fort degré de protection avec une séparation complète du travail et du travailleur. Certaines hottes ont des gants pouvant être retirés et sont des enceintes de classe III/I. Elles peuvent être utilisées dans l'un ou l'autre mode.

Des descriptions d'enceintes de sécurité et des principes de travail avec des règles de sécurité ont été publiées (8, 10, 17).

E. CONSERVATION DES AGENTS PATHOGÈNES

La conservation d'agents pathogènes vivants requiert un confinement et une sécurité appropriés pour éviter tout risque dû à la rupture ou à une utilisation non prévue du matériel. Les systèmes de stockage doivent être parfaitement identifiés pour indiquer la nature de l'agent pathogène (c'est à dire le Groupe) et la ou les personne(s) responsables (s) de ces agents pathogènes à contacter pour obtenir des informations. Un inventaire complet des agents pathogènes conservés doit être entretenu et maintenu disponible. Des précautions spéciales doivent être prises quand les flacons en verre d'agents pathogènes lyophilisés sont ouverts, car ils peuvent se briser. Des précautions doivent être également prises quand on travaille avec de l'azote liquide ou dans des locaux dans lesquels des gaz toxiques pourraient être produits.

Plusieurs considérations décrites ci-dessus ne concernent pas seulement les agents pathogènes humains, mais servent également à prévenir la diffusion d'agents pathogènes animaux. Dans un laboratoire vétérinaire, une responsabilité importante est de minimiser tout passage d'agents pathogènes animaux vers les animaux domestiques ou la faune sauvage. Des contacts étroits doivent être maintenus avec les autorités vétérinaires. Des directives nationales pour des licences spéciales pourront être nécessaires pour travailler avec certains micro-organismes.

F. RISQUES PHYSIQUES ET CHIMIQUES

Le travail au laboratoire nécessite de nombreuses manipulations qui sont potentiellement dangereuses comme la manipulation de verrerie et l'utilisation d'aiguilles, ou d'autres instruments tranchants. Des procédures et des équipements appropriés doivent être disponibles pour l'élimination en toute sécurité des aiguilles et autres instruments tranchants usagés.

Le personnel du laboratoire doit être protégé des risques de brûlures liés à des liquides ou du matériel. Les autoclaves doivent être équipés de dispositifs de sécurité pour empêcher une ouverture accidentelle des portes lors de la mise sous pression et être régulièrement utilisés et contrôlés. Des gants, des masques couvrant toute la face et des tabliers protégeant de la chaleur doivent être utilisés. Le grand froid peut être également source de danger, comme la manipulation d'azote liquide ; des aspersions sur la peau peuvent provoquer des brûlures. Il faut porter des gants isolants, pour éviter la pénétration du froid, et étanches, pour éviter la pénétration de l'azote liquide. Des masques de protection de tout le visage et des bottes devront également être portés lors de travail avec l'azote liquide. L'évaporation de l'azote à partir des conteneurs d'azote liquide peut conduire, dans les locaux mal ventilés, à une raréfaction de l'oxygène avec des conséquences fatales.

L'irradiation est un risque grave qui peut exister lors de la manipulation de sources de rayons X ou lors de l'utilisation d'émetteur gamma ou d'autres sources. Le matériel doit être utilisé et contrôlé régulièrement. Tout usage de radioéléments doit être minutieusement enregistré. Tout le personnel doit porter un badge de surveillance individuelle vis-à-vis des radiations et doit subir des examens médicaux annuels. Les réglementations locales et nationales doivent être appliquées (10).

Une large gamme de produits chimiques est utilisée dans les laboratoires vétérinaires ; certains sont des toxiques ou des mutagènes, d'autres peuvent être cancérigènes. On doit toujours se souvenir que c'est la dose qui fait le poison. Les vapeurs de produits chimiques sont spécialement dangereuses, certaines substances chimiques pouvant être absorbées par pénétration de la peau intacte. La stérilisation par la vapeur peut rendre volatiles des produits chimiques toxiques et mettre ainsi en danger les personnels qui déchargent les autoclaves ou les autocuiseurs. Des procédures suffisantes de protection des femmes enceintes travaillant dans les laboratoires doivent être suivies à tout moment. Une liste de produits dangereux doit être maintenue à jour et la liste des produits chimiques manipulés par chaque membre de l'équipe doit être répertoriée. C'est maintenant une exigence réglementaire dans certains pays. Les produits chimiques doivent être correctement stockés dans des récipients appropriés et à une température adéquate. Les produits inflammables doivent être gardés dans des enceintes chimiques ignifugées. Un fichier des fournisseurs et des produits chimiques dangereux doit être établi : quantité, date, utilisation, utilisateur. L'élimination de certains produits chimiques est réglementée officiellement.

D'autres informations concernant les règles de sécurité en matière de produits chimiques et de risques physiques sont décrites dans la littérature (11, 12).

G. ANIMALERIES

Le travail avec des agents pathogènes dans des animaleries entraîne des risques spécifiques. Chaque pièce de l'animalerie doit être conçue en tenant compte des niveaux de confinements et des normes en vigueur comme pour les laboratoires. Le niveau de confinement de l'animalerie est très important compte tenu de la quantité d'agents infectieux qui peut être générée. Des considérations similaires sont à prendre en compte pour la formation du personnel, les vêtements de protection et les enregistrements des expérimentations. Des

précautions adaptées doivent être prises pour éviter toute blessure du personnel par morsure ou coup ainsi que tout accident par auto-inoculation. De tels accidents doivent être enregistrés et les blessures doivent être traitées de façon appropriée. La stérilisation des carcasses par autoclavage, leur incinération ou leur élimination doivent être prévues de même que le nettoyage intensif et la désinfection de toute pièce de l'animalerie. Les pièces de l'animalerie doivent être non seulement adaptées aux animaux hébergés, mais aussi être construites et ventilées afin d'assurer le confort des animaliers. Ceci est un vaste sujet qui ne peut être traité que brièvement dans cette section (4, 7). Un livre excellent concernant la santé et la sécurité dans les animaleries de laboratoire est disponible (18).

H. MESURES D'URGENCE

Un équipement de première urgence doit être disponible facilement, maintenu dans un emplacement propre n'étant pas contaminé par le travail effectué dans le laboratoire (par exemple, dans un sas ou un vestibule). Cet équipement doit être approprié au travail et correctement maintenu. Il doit être gardé sous la main en cas d'urgence et à la disposition des personnels formés aux premiers soins. Des compresses, bandes, et des produits pharmaceutiques doivent être maintenus à disposition. Certaines équipes doivent recevoir un entraînement, reconnu par les autorités, en matière de sécurité et de premier secours et doivent posséder un certificat valide comme preuve de leur compétence. Les personnels travaillant dans des laboratoires de niveau de confinement 4 doivent posséder des compétences avancées pour les premiers soins. Leurs noms et postes doivent être connus par chacun et affichés sur les tableaux d'affichage. L'ensemble du personnel doit être informé de l'importance des règles de sécurité. Des procédures et un équipement doivent être disponibles en cas de renversements et de décontamination. Un registre de tous les incidents doit être tenu à jour et, dans certains pays, obligation est faite de rapporter tous les incidents à l'autorité compétente.

Des procédures doivent être écrites concernant l'urgence lors de défaillances des systèmes de confinement ou du maintien de l'air, par exemple dans les enceintes de sécurité microbiologique ou les pièces de confinement biologique, qui peuvent conduire à une perte du niveau de confinement.

De nombreux laboratoires sont maintenant dotés d'un comité hygiène et sécurité pour améliorer les règles de sécurité et discuter des mesures à prendre avec le responsable. Le personnel est responsable de sa propre sécurité et de celle de leur entourage. Le directeur de laboratoire est aussi responsable de la sécurité pour l'ensemble de son laboratoire ; les considérations de temps et de coût ne doivent pas entrer en considération pour la mise en place des règles de sécurité au niveau du personnel ou de celles concernant le confinement des agents responsables de maladies animales.

Une procédure d'urgence doit exister pour obtenir, en cas de besoin, une assistance médicale, voire l'hospitalisation dans des services de maladies infectieuses. Des alarmes incendies doivent être prévues et testées régulièrement. L'institution ou le laboratoire doit désigner un responsable chargé de contrôler les situations d'urgence, d'assurer la communication et de diriger des exercices périodiques pour apprendre au personnel quoi faire et où se rassembler en cas d'urgence. Le responsable incendie doit s'assurer que tout le personnel a évacué le bâtiment et que chacun est à l'abri. Des procédures pour des catastrophes naturelles, comme les ouragans ou les tremblements de terre, doivent être mise en place lorsque ceux-ci présentent un risque. Toutes ces procédures doivent être écrites et revues périodiquement.

I. TRANSPORT DE MATÉRIEL INFECTIEUX

Un soin particulier doit être apporté à la préparation et l'emballage pour le transport d'échantillons pour le diagnostic, le matériel infectieux et les agents pathogènes afin de s'assurer que le récipient ne se casse pas et qu'il n'y ait pas de fuite du contenu qui pourrait engendrer un risque pour les agents des postes, les courriers et les personnes travaillant à la réception du courrier au laboratoire. L'application des réglementations locales, nationales et internationales pour le transport de marchandises dangereuses (échantillons pour le diagnostic ou matériel infectieux) et l'importation de pathogènes d'animaux doivent être suivies. Elles sont résumées dans le Chapitre 1.1.1. « Prélèvement et expédition des échantillons pour le diagnostic ».

Lors du classement des agents pathogènes dans l'un des Groupes, il convient de tenir compte des critères suivants :

a) Agents pathogènes animaux du Groupe 1

Organismes causant des maladies zoonotiques qui ne sont pas soumises à un contrôle officiel.

b) Agents pathogènes animaux du Groupe 2

Organismes causant des maladies soit exotiques soit zoonotiques, mais qui sont soumises à un contrôle officiel et qui présentent un risque faible de diffusion à partir du laboratoire.

c) Agents pathogènes animaux du Groupe 3

Organismes causant des maladies soit exotiques soit enzootiques, mais qui sont soumises à un contrôle officiel et qui présentent un risque modéré de diffusion à partir du laboratoire.

d) Agents pathogènes animaux du Groupe 4

Organismes causant des maladies soit exotiques soit enzootiques mais qui sont soumises à un contrôle officiel et qui présentent un risque élevé de diffusion dans le milieu extérieur et la population animale du pays à partir du laboratoire.

J. GROUPES DE CONFINEMENT

1. L'objectif principal du confinement est de prévenir la sortie des agents pathogènes du laboratoire et leur diffusion dans la population animale du pays. Certains agents pathogènes animaux peuvent aussi affecter les humains. Dans ce cas, la menace pour la santé humaine peut demander un confinement plus grand que celui qui serait autrement considéré comme suffisant sur la seule base des considérations de santé animale. De même, il convient de prendre en compte et de contrôler le risque de transmission de l'homme vers l'animal. En outre, les animaux utilisés au laboratoire pour des expériences sur les agents pathogènes doivent être maintenus à un niveau de confinement approprié.
2. Le niveau du confinement physique et des procédures de biosécurité ne doit pas être inférieur à celui du Groupe dans lequel l'agent pathogène a été classé, et les exigences doivent être fonction de la nature de l'agent pathogène (c-à-d, bactéries, virus, champignons ou parasites). Le niveau de confinement minimum est requis pour les agents pathogènes du Groupe 1 et le niveau de confinement maximum pour ceux du Groupe 4. La section K présente un guide des exigences de confinement pour les Groupes 2, 3 et 4.
3. Certains arthropodes peuvent être soit directement pathogènes soit vecteurs pour des agents pathogènes. S'ils sont vecteurs pour un agent pathogène utilisé au laboratoire, il convient de confiner l'agent pathogène à un niveau de confinement approprié en plus d'un confinement de l'arthropode.

K. GUIDE SUR LES CONDITIONS REQUISES POUR LES DIFFÉRENTS GROUPES DE CONFINEMENT AU LABORATOIRE OU DANS LES ANIMALERIES

Conditions requises pour le laboratoire et les animaleries	Groupe de confinement		
	2	3	4
A) Structure et aménagement du laboratoire et des animaleries			
1. Installation du laboratoire et des animaleries dans des lieux isolés		Oui	Oui
2. Éloignement de toute source d'incendie	Oui	Oui	Oui
3. Zones distinctes pour le travail de laboratoire et les autres activités	Oui	Oui	Oui
4. Mesures de protection contre l'entrée ou la sortie des rongeurs et des insectes	Oui	Oui	Oui
5. Stérilisation et suivi des effluents liquides		Oui	Oui
6. Stérilisation et suivi des effluents liquides en provenance de stérilisateurs à vapeur			Oui
7. Isolement par des sas – Flux d'air continu à l'intérieur		Oui	Oui
8. Pression négative dans le laboratoire et les animaleries avec enregistrement du différentiel de pression		Oui	Oui
9. Filtration de l'air entrant au travers de filtres HEPA ou équivalents tels que des clapets étanches au gaz; filtration de l'air extrait sur un seul filtre HEPA pour les laboratoires et sur deux filtres HEPA pour les animaleries		Simple filtre pour l'extraction	Simple filtre pour l'entrée – double filtre pour l'extraction

Conditions requises pour le laboratoire et les animaleries	Groupe de confinement		
	2	3	4
10. Vérification régulière des filtres HEPA (en général tous les ans)	Oui	Oui	Oui
11. Les laboratoires et animaleries doivent pouvoir être fermés hermétiquement pour permettre une fumigation		Oui	Oui
12. Incinérateur, stérilisateur à vapeur, ou système d'élimination des carcasses et des déchets	Disponible	Oui	Oui sur place
13. Facilité de nettoyage du laboratoire et des animaleries : surfaces planes imperméables à l'eau et résistantes aux produits chimiques ; présence dans chaque pièce du laboratoire d'un point d'eau pour le lavage des mains et d'une douche d'urgence ainsi que d'un système de nettoyage des yeux, comme il convient pour les risques chimiques ou autres. Établissement de procédures en vue de nettoyages et de désinfections fréquentes pendant et à la fin de la période de travail.	Oui	Oui	Oui
14. Présence d'enceintes de sécurité biologique de classe I ou II	Oui	Oui	Oui
15. Présence d'enceintes de sécurité biologique de classe III		Oui	Oui
16. Système mécanique d'approvisionnement en air avec système de sécurité et alarme en cas de panne		Oui	Oui
17. Accès direct aux autoclaves et stérilisateurs à vapeur	Oui	Oui avec double entrée	Oui avec double entrée
18. Conservation des agents pathogènes spécifiés au laboratoire	Oui	Oui	Oui
19. Autoclave à deux portes formant sas		De préférence	Oui
20. Agent chargé de la sécurité et responsable du confinement	Oui	Oui	Oui
21. Formation spéciale du personnel et vérification des compétences requises	Oui	Oui	Oui
B) Discipline à l'intérieur du laboratoire			
22. Affiches d'information au niveau des zones de confinement pour indiquer la présence de danger ainsi que le nom et le numéro de téléphone de la (des) personne(s) responsable(s)	Oui	Oui	Oui
23. Affichage dans le laboratoire des protocoles d'urgence pour avertir le personnel des procédures à suivre en cas de fuite d'un agent pathogène ou pour évacuer le laboratoire en cas d'incendie ou de tout autre événement	Oui	Oui	Oui
24. Possibilité de fermeture à clef ou au verrou du laboratoire	Oui	Oui	Oui
25. Entrée réservée au personnel autorisé	Oui	Oui	Oui
26. Quand de besoin, port de vêtements de protection y compris gants, masques, lunettes de protection et respirateurs oro-nasaux ; les vêtements sont retirés avant de quitter le laboratoire	Oui	Oui	Oui
27. Lorsqu'une session de travail est en cours, fermeture des portes du laboratoire et ventilation assurée par extraction de l'air de la pièce de travail (quand des enceintes de sécurité microbiologiques sont utilisées, il convient de bien équilibrer le système de ventilation)	Oui	Oui	Oui
28. Interdiction de conserver ou de consommer de la nourriture ou des boissons à l'intérieur du laboratoire	Oui	Oui	Oui
29. Interdiction de fumer ou de se maquiller à l'intérieur du laboratoire	Oui	Oui	Oui
30. Interdiction de pipetter avec la bouche	Oui	Oui	Oui

Conditions requises pour le laboratoire et les animaleries	Groupe de confinement		
	2	3	4
B) Discipline à l'intérieur du laboratoire (suite)			
31. Réduire autant que possible la formation d'aérosols	Oui	Oui	Oui
32. Interdiction de jeter du matériel infectieux dans les éviers ou tout autre tuyau d'écoulement du laboratoire	Oui	Oui	Oui
33. Stockage en toute sécurité de la verrerie et des matériels utilisés avant désinfection. Les matériels à usage unique sont transportés en évitant les fuites dans des conteneurs solides. Le matériel souillé doit être autoclavé, incinéré ou rendu inoffensif par tout autre moyen, avant d'être éliminé. Le matériel ré-utilisable doit être décontaminé par des moyens appropriés.	Oui	Oui	Oui
34. Obligation d'enregistrer tout incident ou accident et de le signaler au responsable de la sécurité	Oui	Oui	Oui
35. Obligation de changer de vêtements à l'entrée dans le laboratoire et de porter des vêtements propres		Oui	Oui
36. Obligation à la sortie du laboratoire de retirer ses vêtements de protection et tout équipement	Oui	Oui	Oui
37. Obligation pour le personnel de prendre une douche et de changer de vêtements avant de sortir du laboratoire et de passer dans la zone propre		Il peut être nécessaire pour le personnel de se doucher avant de sortir et de porter des vêtements spéciaux à laisser dans le laboratoire en quittant le bâtiment	Oui
C) Manipulation des échantillons			
38. Informations sur les règles de conditionnement des échantillons avant envoi	Oui	Oui	Oui
39. Ouverture des colis arrivant par du personnel formé dans des locaux de réception appropriés	Oui	Oui	Oui
40. Obtention d'une licence pour le transport d'agents pathogènes d'un laboratoire agréé vers un autre laboratoire	Oui	Oui	Oui
41. Des procédures opératoires normalisées doivent être disponibles	Oui	Oui	Oui

1. Conditions requises supplémentaires pour le travail en animaleries

1. Les animaleries doivent être faciles à nettoyer avec des murs imperméables à l'eau et résistants aux produits chimiques utilisés dans celles-ci.
2. L'accès du personnel dans les zones de travail doit être limité ; des mesures de sécurité appropriées peuvent se révéler nécessaires pour les agents pathogènes à haut risque, telles que l'accès électroniquement contrôlé.
3. Le personnel doit porter des équipements de protection telles que blouses, bottes, gants à usage unique, masques, lunettes de sécurité ou respirateurs oro-nasaux chaque fois que cela est nécessaire ; les équipements sont portés dans les animaleries et retirés lors de la sortie du bâtiment.
4. Lorsqu'un travail est en cours, la porte de l'animalerie doit être fermée et la ventilation doit être assurée par extraction de l'air de la pièce (lorsque des enceintes de sécurité sont utilisées, il convient de prendre soin à équilibrer les systèmes de ventilation).
5. Il est interdit de conserver ou de consommer de la nourriture (chewing-gum, bonbons, pastilles pour la gorge, etc.) ou des boissons dans les animaleries.
6. Il est interdit de fumer ou de se maquiller dans les animaleries.

7. La verrerie et les autres matériels doivent être conservés en toute sécurité après désinfection. Les matériels à jeter doivent être transportés dans des conteneurs solides en évitant les fuites. Le matériel souillé doit être autoclavé, incinéré ou rendu inoffensif par tout autre moyen avant élimination. Le matériel ré-utilisable doit être décontaminé par des moyens appropriés.
8. Aucun produit infectieux ne doit être versé dans les tuyaux d'écoulement des animaleries sans un traitement préalable approprié.
9. Tout accident ou incident doit être enregistré et signalé à l'agent responsable de la sécurité.

L. CONCLUSION

Maintenir les meilleures règles de sécurité dans le laboratoire pour permettre à l'ensemble du personnel un travail dans des conditions optimales doit être la plus grande des priorités. Celles-ci pourront être atteintes par une étude circonspecte des principes appliqués, suivies par une application pratique aux locaux, à l'équipement, aux procédures opératoires et à l'hygiène. La formation du personnel de laboratoire doit être une priorité principale et aucun personnel ne doit être autorisé à travailler s'il n'a pas accompli et satisfait une formation appropriée. De nombreux articles et livres existent sur tous les aspects de ce sujet et sont recommandées en complément de ce chapitre (6, 9, 13, 14, 19).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. ACHA P.N. & SZYFRES B. (2001). Zoonoses and Communicable Diseases Common to Man and Animals, Third Edition. Pan American Health Organisation, Scientific Publication. PAHO, Washington DC, USA.
2. ADVISORY COMMITTEE ON DANGEROUS PATHOGENS (1995). Categorisation of Biological Agents According to Hazard and Categories of Containment, Fourth Edition. Health and Safety Executive Books, P.O. Box 1999, Sudbury, Suffolk, CO10 6FS, UK. ISBN 0-7176-1038-1.
3. ADVISORY COMMITTEE ON DANGEROUS PATHOGENS (1998). Transmissible Spongiform Encephalopathy Agents: Safe Working and the Prevention of Infection. Spongiform Encephalopathy Advisory Committee. Her Majesty's Stationery Office, London, UK.
4. BARBEITO M.S., ABRAHAM G., BEST M., CAIRNS P., LANGEVIN P., STERRITT W.G., BARR D., MEULEPAS W., SANCHEZ-VIZCAINO J.M., SARAZA M., REQUENA E., COLLADO M., MANI P., BREEZE R., BRUNNER H., MEBUS C.A., MORGAN R.L., RUSK S., SIEGFRIED L.M. & THOMPSON L.H. (1995). Recommended biocontainment features for research and diagnostic facilities where animal pathogens are used. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, **14**, 873–887.
5. BELL J.C., PALMER S.R. & PAYNE J.M. (1988). The Zoonoses. Edward Arnold, London, UK.
6. BERAN G.W. & STEELE J.H. (eds) (1994). Handbook of Zoonoses, Second Edition. Section A. (Bacterial, Rickettsial, Chlamydial and Mycotic Zoonoses) and Section B (Viral Zoonoses), CRC Press, USA.
7. CANADIAN FOOD INSPECTION AGENCY (1996). Containment Standards for Veterinary Facilities, Best M., ed. Canadian Food Inspection Agency, Ottawa, Ontario, Canada.
8. COLLINS C.H. (1990). Health hazards in microbiology. *In: Handbook of Laboratory Health and Safety Measures*, Pal S.B., ed. Kluwer Academic Publications, Dordrecht, The Netherlands, 159–188.
9. COMITE EUROPEAN DE NORMALISATION (2000). EN12469:2000; Performance Criteria for Microbiological Safety Cabinets. Comité European de Normalisation, Rue de Strassart 36, B-1040 Brussels, Belgium.
10. INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY (IAEA) (1994). International Basic Safety Standards for Protection against Ionizing Radiation and for the Safety of Radiation Sources, Interim Edition. Safety Series No. 115-I. IAEA, Vienna, Austria.
11. OFFICE OF BIOSAFETY, LABORATORY CENTRE FOR DISEASE CONTROL, HEALTH AND WELFARE CANADA (1996). Laboratory Biosafety Guidelines, Second Edition. Ministry of Supply and Services Canada, Cat. No. MR 21-2/1996.
12. RAYBURN S.R. (1990). The Foundations of Laboratory Safety (a Guide for the Biomedical Laboratory). Springer-Verlag, New York, USA.

13. RICHMOND Y. (ed) (1996–2002). Anthology of Biosafety: I–V. American Biological Safety Association. Mundelein, Illinois, USA.
14. SEWELL D.L. (1995). Laboratory associated infections and biosafety. *Clin. Microbiol. Rev.*, **8**, 389–405.
15. UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (2002). ARS Facilities Design Standards, Section 9 Biohazard Containment Design. <http://www.afm.ars.usda.gov/ppweb/242-01m.htm#H304>
16. US DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES, CENTRES FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION AND NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (2007). Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, Fifth Edition., Washington DC, USA. <http://www.cdc.gov/od/ohs/biosfty/bmbl5/bmbl5toc.htm>
17. U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES, PUBLIC HEALTH SERVICE, CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, AND NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (2000). Primary Containment for Biohazards: Selection, Installation and Use of Biological Safety Cabinets, Second Edition. United States Government Printing Office, Washington DC, USA.
18. WOOD M. & SMITH M.W. (EDS) (1999). Health and Safety in Laboratory Animal Facilities. Royal Society of Medicine Press, London, UK, pp. 249.
19. WORLD HEALTH ORGANIZATION (2004). Laboratory Biosafety Manual, Third Edition. WHO, Geneva, Switzerland.

*
* *