



**21th Annual Conference of the
European Biosafety Association**

Pre-Conference Courses

Course J

BSC – making the most of it

**17 April 2018
Copenhagen / Denmark**

Course Instructors
Felix Gmunder
Søren Thuesen

Introduction aux Enceintes de sécurité biologique: Classes Et Utilisation

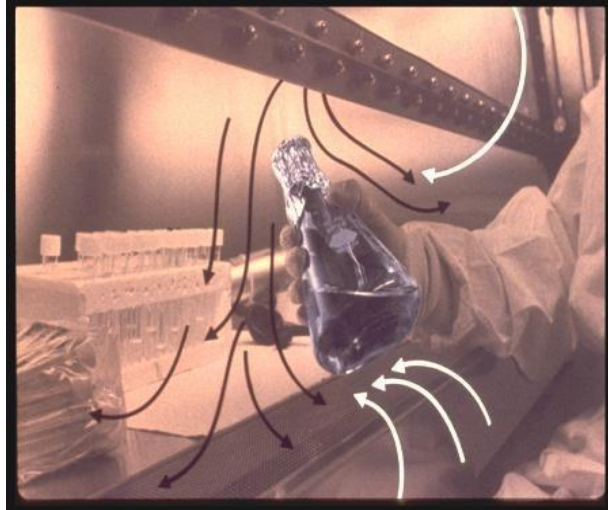
Présenté par Dr. Meryem Lemrani

Objectives

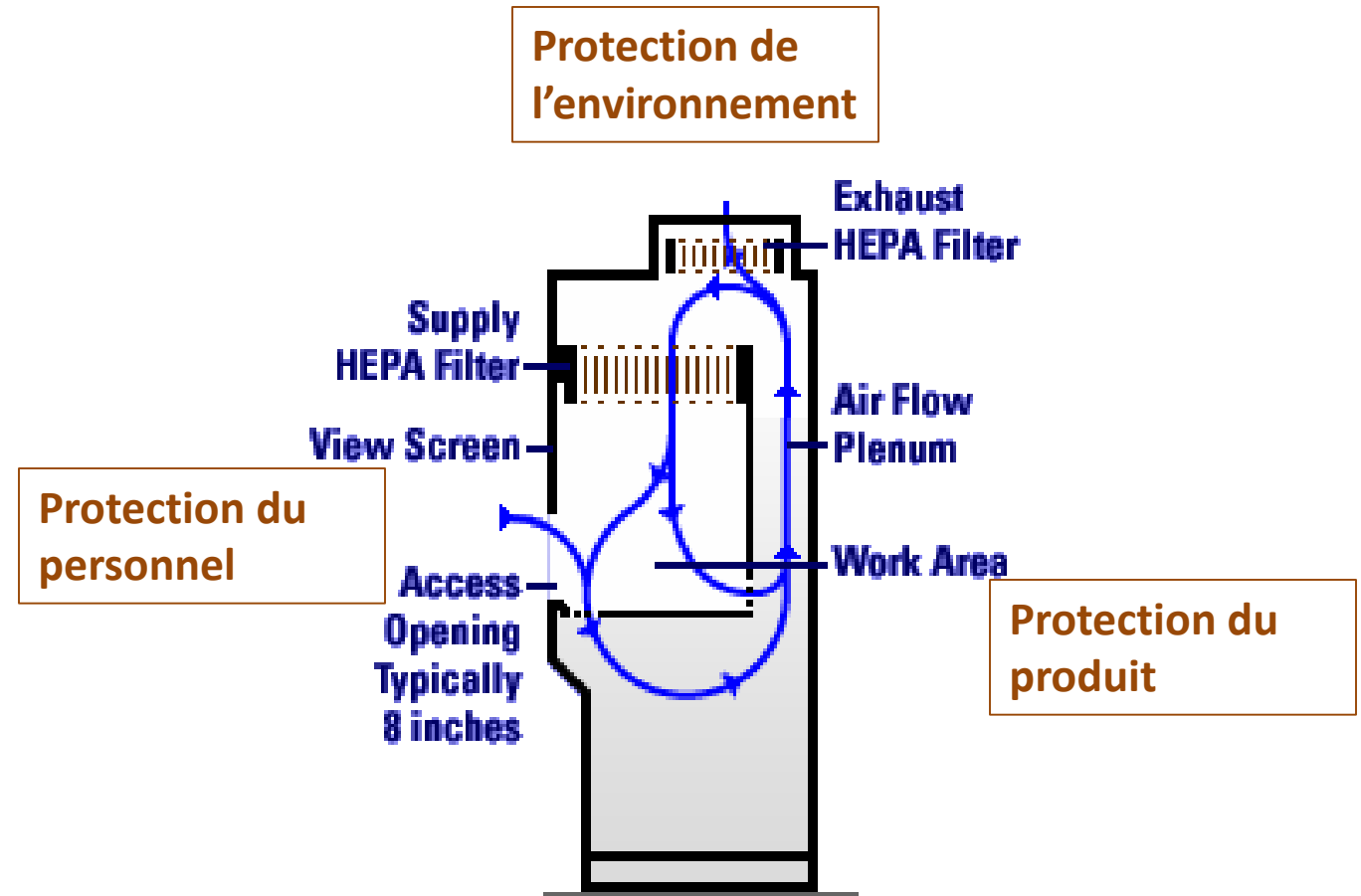
1. Classes et Types d'Enceinte de sécurité biologique (ESBs)
2. Utilisation et organisation du travail sous une ESB
3. Installation et Maintenance



Comment une ESB peut elle protéger?

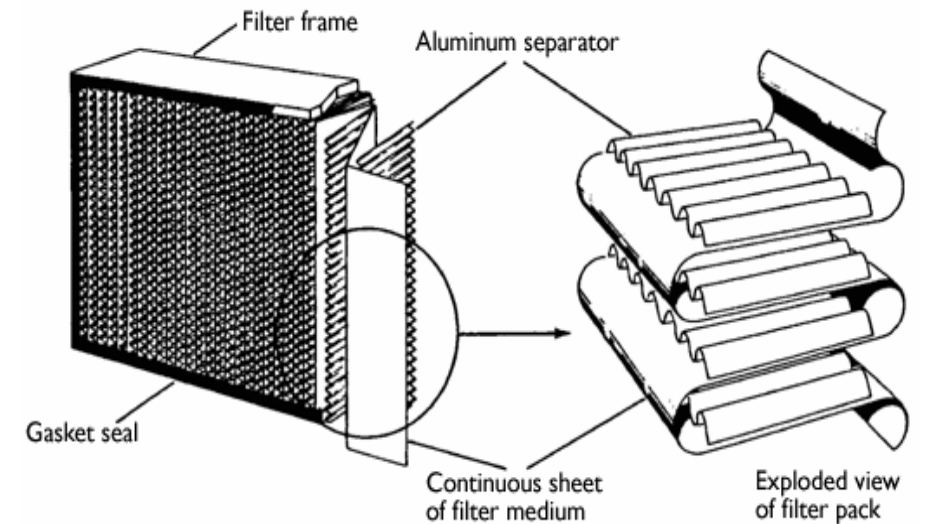


La plus importante modification de ESB a été le montage d'un filtre à particules de haute efficacité (HEPA: **High Efficiency Particulate Air**) sur le système d'évacuation.



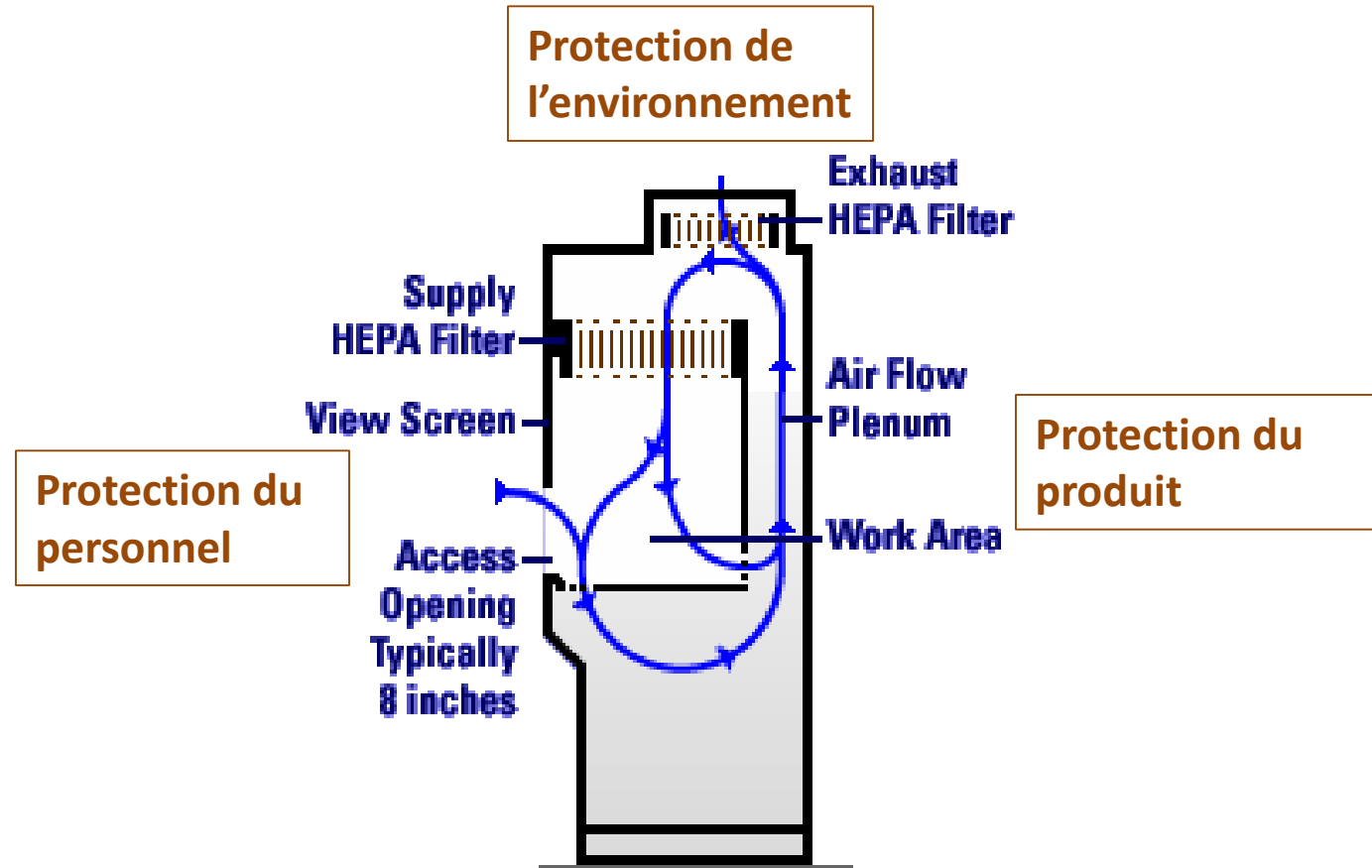
FILTRE À PARTICULES DE HAUTE EFFICACITÉ HEPA

- Filtre délicat en feuille plissée de fibre borosilicate
- Séparateurs en aluminium mince
- Filtre 99,97 % des particules de $0,3\mu\text{m}$ de diamètre.
- 99.99% d'efficacité pour les particules $>$ et $<$ $0.3\mu\text{m}$



Comment une ESB peut elle protéger?

La 2^{ème} modification a consisté à diriger l'air filtré sur le plan du travail, ce qui permet d'éviter la contamination de ce plan et de ce qui s'y trouve: « protection du produit »

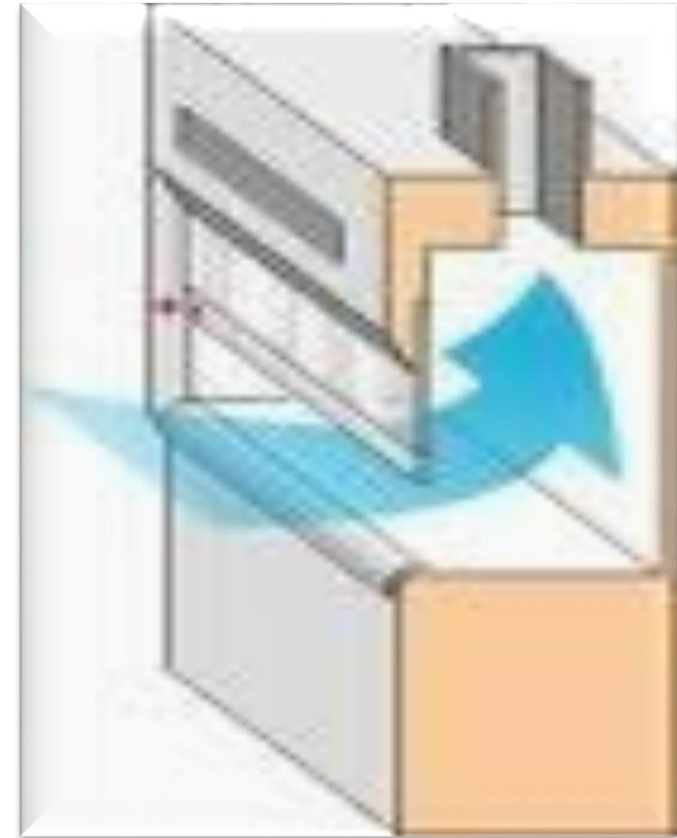


COMPARAISON DES NIVEAUX DE PROTECTION

EQUIPEMENT DU LABORATOIRE	PERSONNEL	PRODUIT	ENVIRONNEMENT
Hotte chimique	✓		
Hotte laminaire de débit		✓	
ESB Classe I	✓		✓
ESB Classe II	✓	✓	✓
ESB Classe III	✓	✓	✓

HOTTE CHIMIQUE

- ❑ N'est pas un ESB
- ❑ Protection pour l'utilisateur seulement
- ❑ Contaminant évacué vers l'extérieur du labo
- ❑ Pas de protection pour le produit
- ❑ Pas de protection pour l'environnement



HOTTE LAMINAIRE DE DÉBIT

N'est pas un ESB

Protection du produit

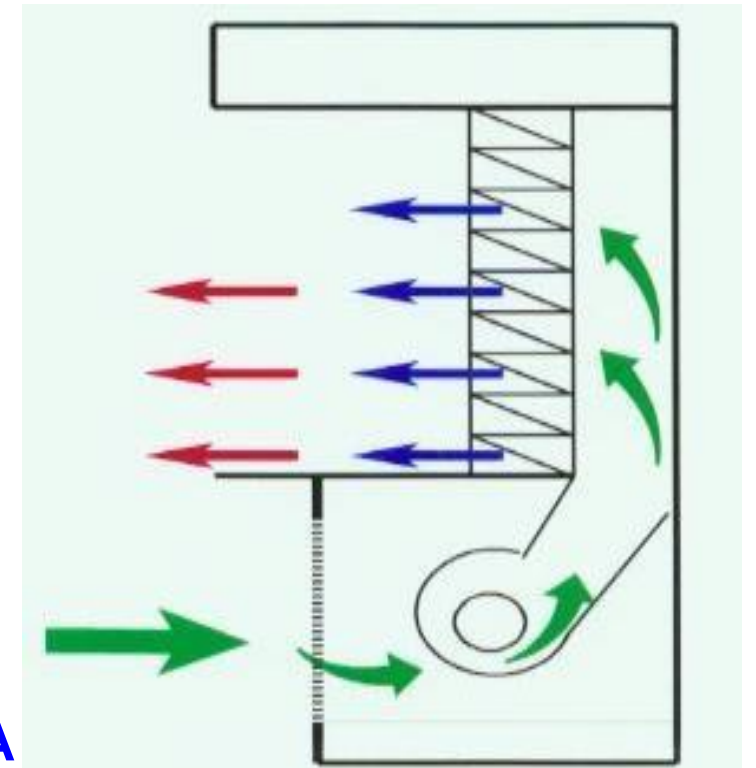
Pas de protection pour utilisateur

Pas de protection pour l'environnement

Air contaminé

Air filtré par HEPA

Air de la pièce



LES CLASSES D'ENCEINTES DE SÉCURITÉ BIOLOGIQUE (ESB)

❑ Classe I

Protège manipulateur et environnement

❑ Classe II

Protège manipulateur, environnement et produit

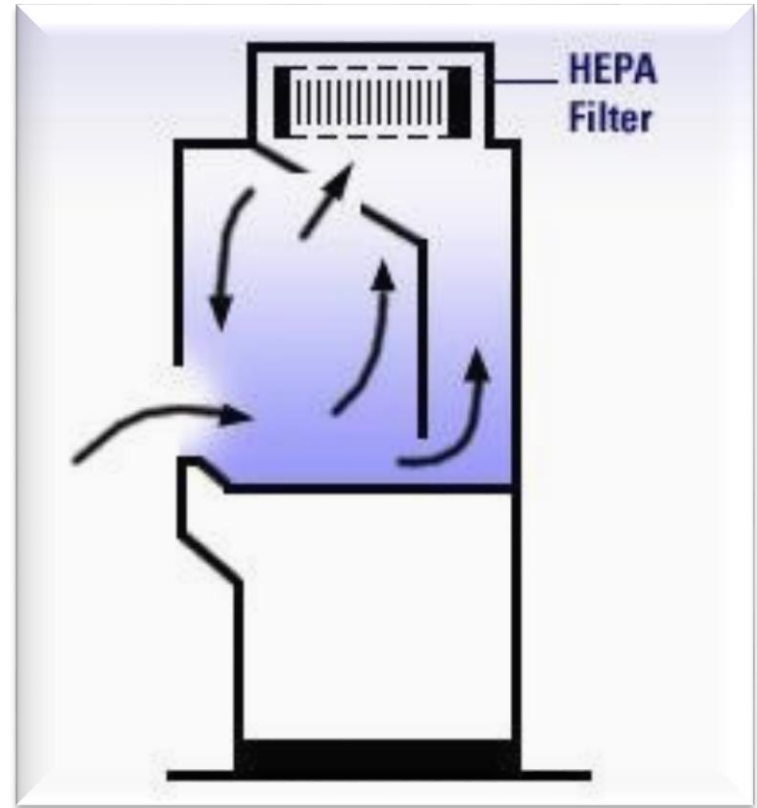
❑ Classe III

Totalement fermée, ventilée, Hermétique
Convenable pour le travail en BSL3 et BSL4



ESB Classe I

- ❑ Protection de l'opérateur
- ❑ Protection de l'environnement
- ❑ Pas de protection du produit
- ❑ Quand la stérilité du travail n'est pas nécessaire



Classe II: Types de ESB

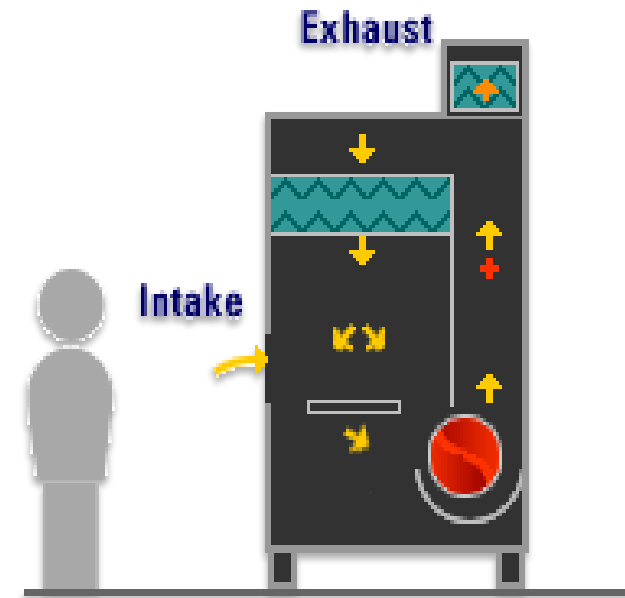
- Type A1
 - Type A2
 - Type B1
 - Type B2
- En fonction des caractéristiques
du débit d'air et des systèmes
d'échappement



Classe II Type A1

- La vitesse min: 0.38m/s
- 70% d'air recyclé, 30% évacue vers l'extérieur du labo
- Pas de produits chimiques toxiques ou radio-isotopes

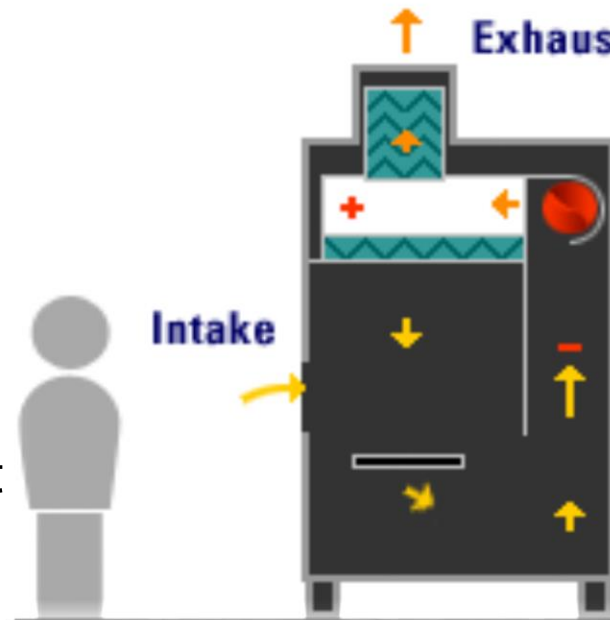
Type A1 Cabinet without canopy



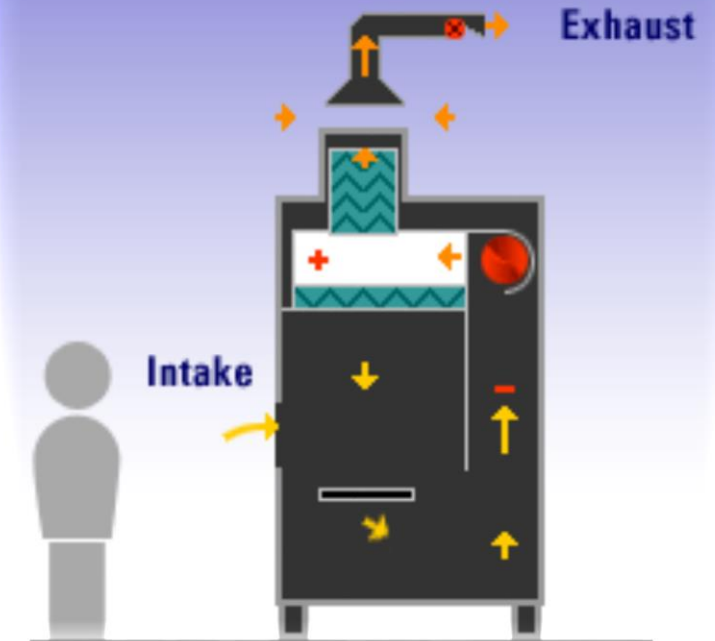
Classe II Type A2

- La prise: 100 pi/min
- Plénière à pression négative
- 70% d'air recyclé, 30% évacué vers l'extérieur du labo
- Peut être utilisé pour des petites quantités de produits chimiques volatils ou radio-isotope (si le capot est présent)

Type A2 Cabinet without canopy

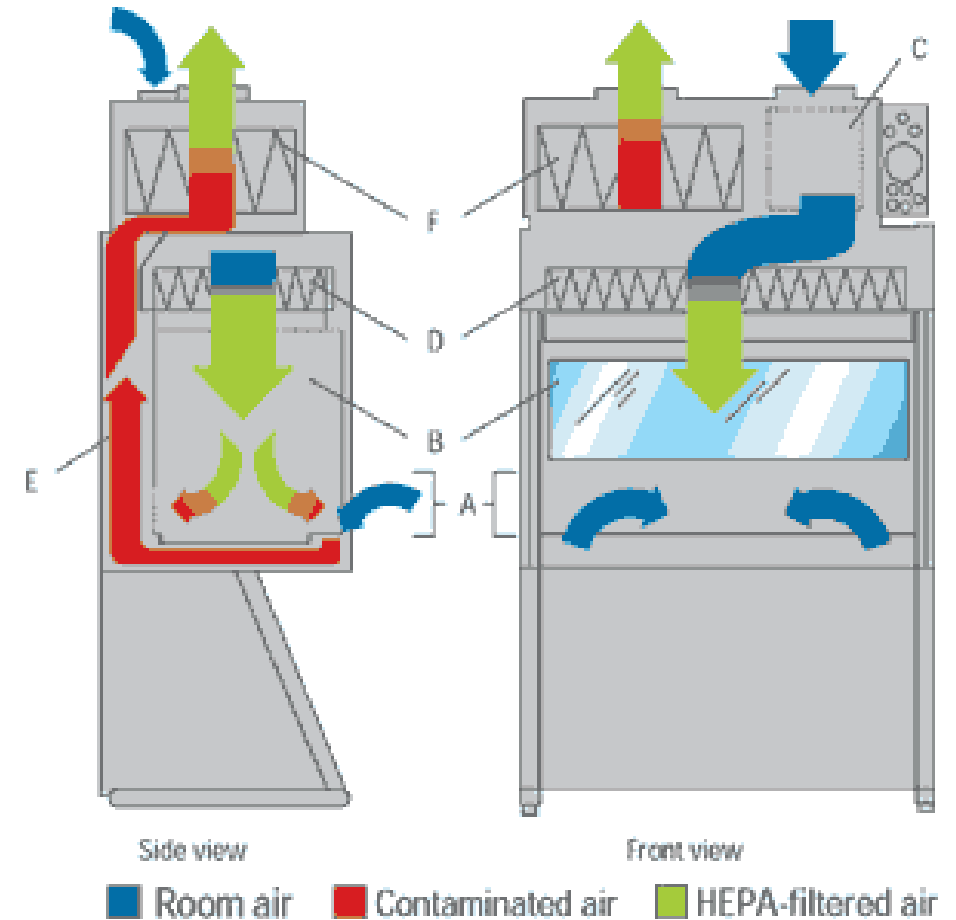


Type A2 Cabinet with canopy



Classe II Type B2

- La prise: 100 pi/min
- Plénière à pression négative
- Pas d'air recyclé, 100% évacué vers l'extérieur
- Peut être utilisé pour des chimiques volatils ou des radio-isotopes

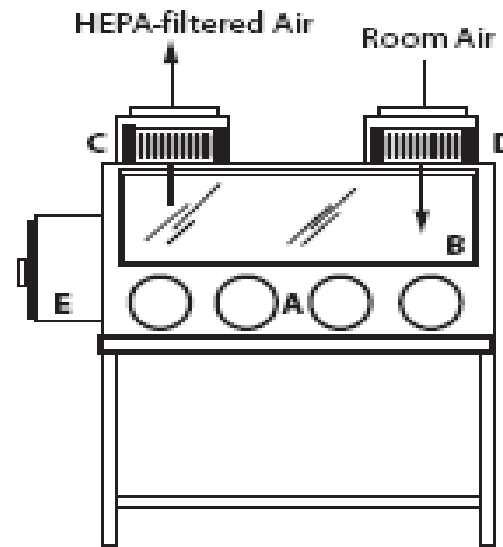


DIFFÉRENCES ENTRE LES ENCEINTES DE SÉCURITÉ BIOLOGIQUE (ESB) DES CLASSES I, II ET III.

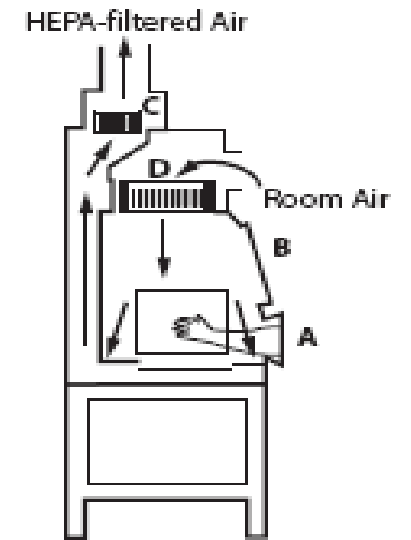
ESB	VITESSE À L'ENTRÉE (m/s)	COURANT D'AIR (%)		CIRCUIT D'ÉVACUATION
		RECYCLÉ	EVACUE	
Classe I	0.36	0	100	Jonction rigide étanche
Classe II A1	0.38-0.51	70	30	Evacuation dans la pièce ou manchon de raccordement
Classe II A2	0.51	70	30	Evacuation dans la pièce ou manchon de raccordement
Classe II B1	0.51	30	70	Jonction rigide étanche
Classe II B2	0.51	0	100	Jonction rigide étanche
Classe III	Sans objet	0	100	Jonction rigide étanche

Classe III BSC

- Enceinte maintenue en dépression à l'intérieur
- On utilise des gants en caoutchouc très résistant fixés à des orifices frontaux.
- Equipée d'un sas de passage susceptible d'être stérilisé, doté d'un système d'évacuation avec filtre HEPA.
- ESB raccordée à un autoclave à double porte pour la décontamination de tout ce qui entre ou sort de l'enceinte.
- Pas de recirculation d'air
- L'air d'alimentation est filtré par HEPA

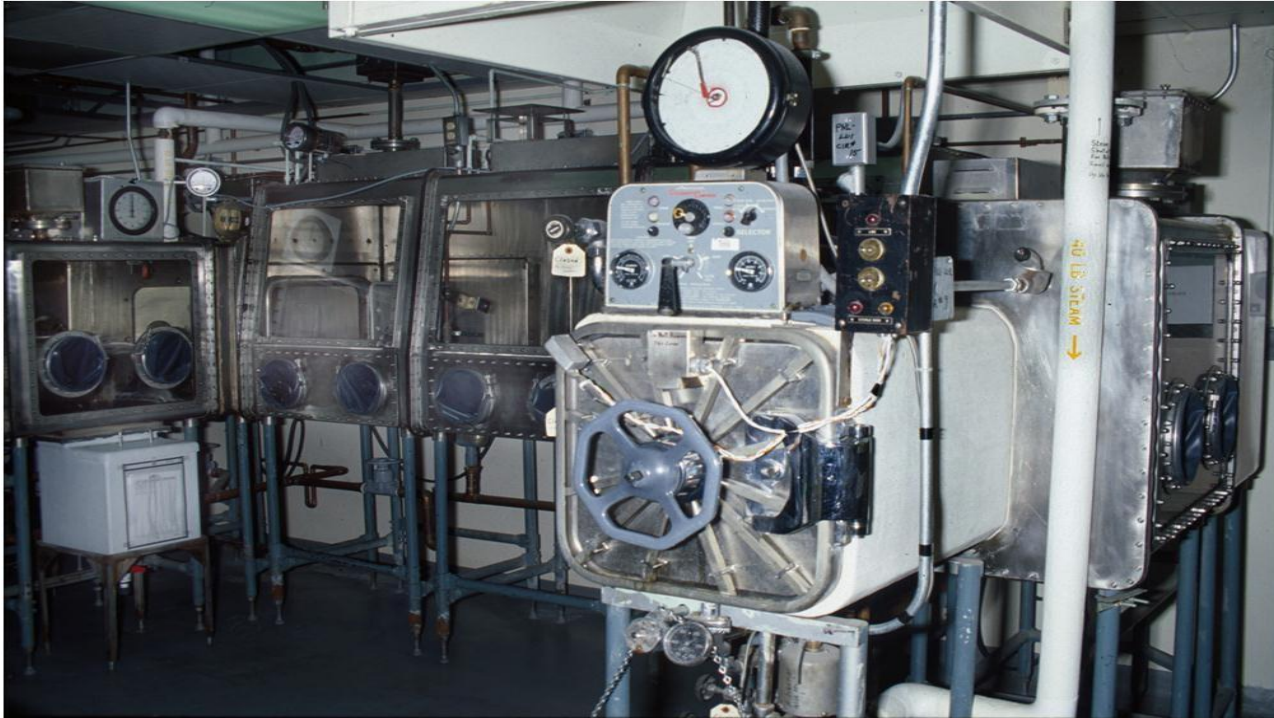


Front View



Side View

Class III Cabinets: Inside and Out



Choix d'une ESB

Evaluation du risque !

Le choix du type de ESB repose sur le type de protection nécessaire:

- Protection du produit manipulé
- Protection du personnel contre les microorganismes des groupes de risque 1-4
- Protection du personnel contre les radionucléides ou produits chimiques toxiques et volatiles
- Protection simultanée contre plusieurs de ces risques

Emplacement d'un ESB dans le labo

Installer loin:

- Des portes ou fenêtres
- De la circulation du personnel
- Des bouches d'aération des system de ventilation
- Des équipements de laboratoire qui pourrait affecter le flux d'air (ex. centrifuges)



L'effet négatif du mouvement en face de l'ESB



Normal airflow into the cabinet



Airflow into the cabinet—
As someone walks by

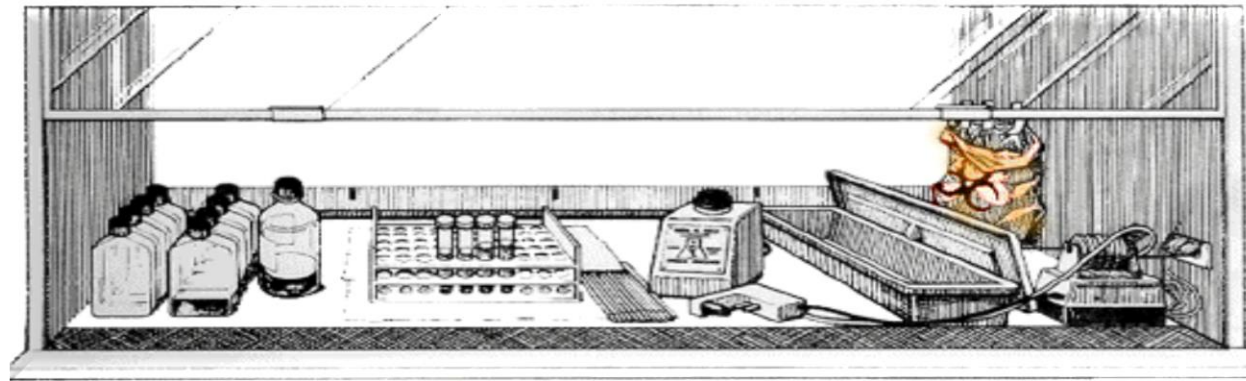
Avant de travailler dans un ESB

- Vérifier si l'ESB est certifiée dans la dernière année?
- Vérifier si le plan d'intervention d'urgence déversement est posté?
- Vérifier les jauges et les moniteurs
- Vérifier le port des équipement de protection personnelle (EPI)
 - Blouse/sarrau de laboratoire
 - Gants
 - Lunette de protection



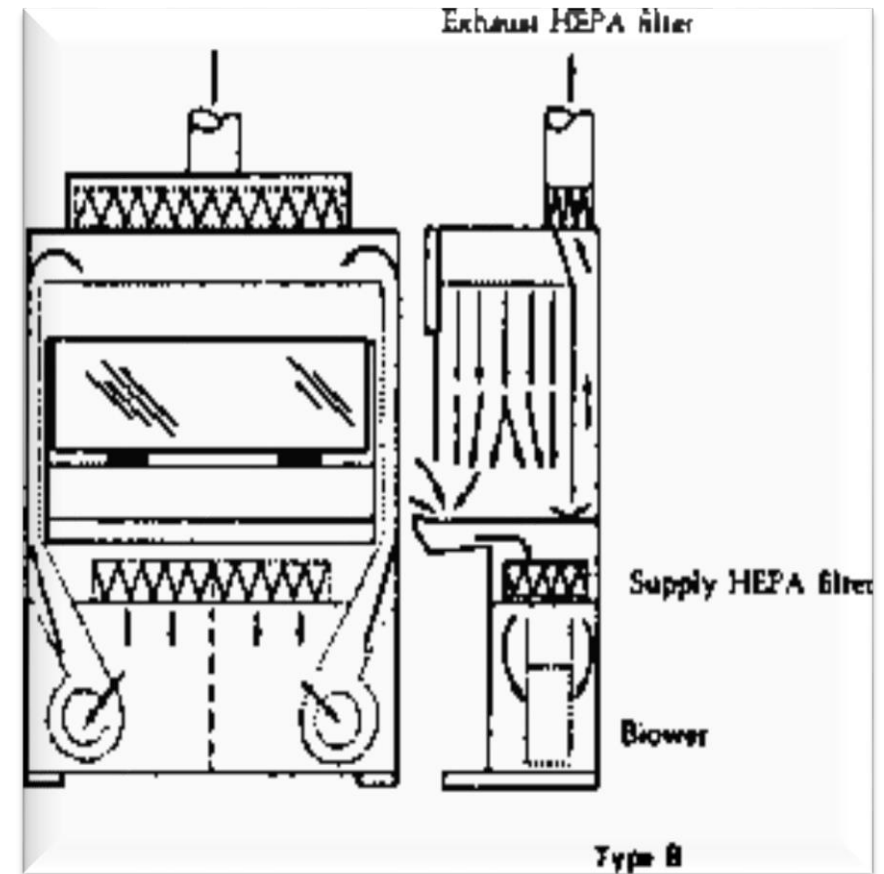
Avant de travailler dans un ESB

- Placer tous les éléments essentiels au travail (désinfectés à l'alcool 70%) à l'intérieur afin de minimiser les mouvements des bras à travers la barrière
- Ne pas obstruer la grille d'échappement
- Séparer les matériaux propres de ceux qui sont contaminés



Le travail dans un ESB

- Planifier des heures de travail sans interruption
- Une personne par ESB
- Fermer les portes et les fenêtres du laboratoire
- Limiter la circulation du personnel



Le travail dans un ESB

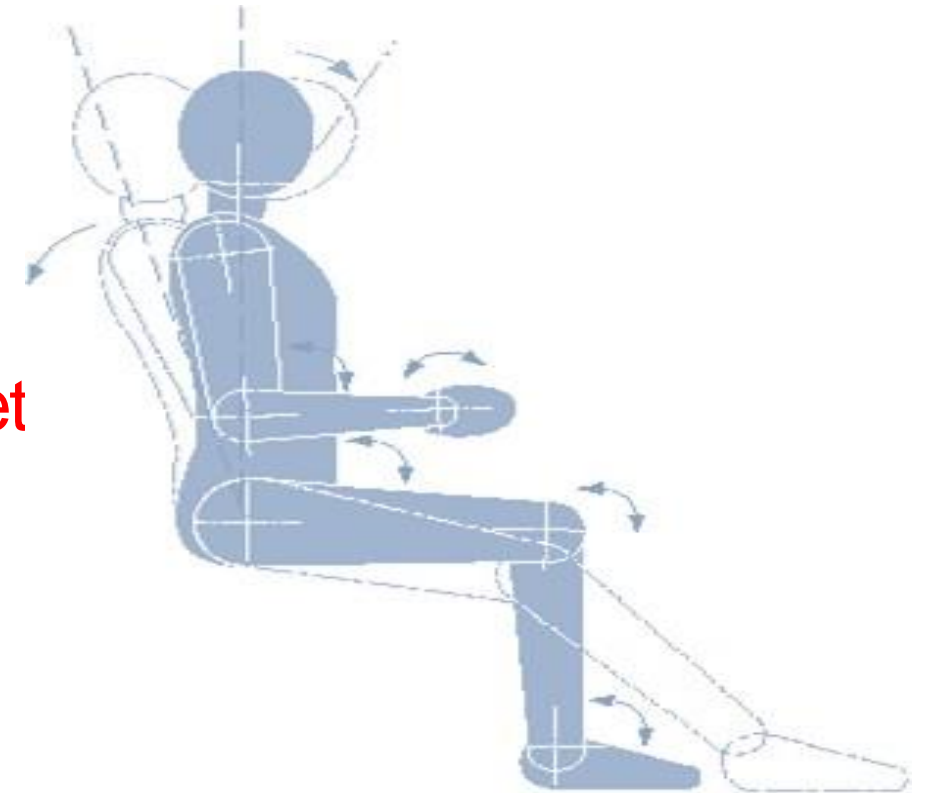
- ❑ Travailler en allant des zones propres vers les zones contaminées
- ❑ Insérer et retirer les bras lentement
- ❑ Attendre environ une mn avant de manipuler
- ❑ Le sac de sécurité autoclavable destiné à recueillir le matériel infectieux et les plateaux à pipettes ne doivent pas être placés hors de l'enceinte



Le travail dans un ESB

Faire attention à l'Ergonomie:

Travailler sous ESB peut créer un effet négatif cumulatif sur les épaules, poignets, coudes et cou



Le travail dans un ESB– En cas de déversement

- Laisser l'ESB en marche
- Aviser votre superviseur en cas de déversement majeure
- Suivre la procédure en cas de déversement
- Si le matériel est passé par la grille
 - Verser le désinfectant dans la grille
 - Laisser le désinfectant agir pour quelques minutes
 - Ouvrir le robinet de vidange, et récupérer le liquide pour élimination



Après le travail est terminé

- ❑ Essuyer la zone de travail, les équipements et les surfaces des contenants
- ❑ Enlever tout matériel de l'ESB
- ❑ Désinfecter les surfaces intérieures
- ❑ Purger au moins 5 minutes

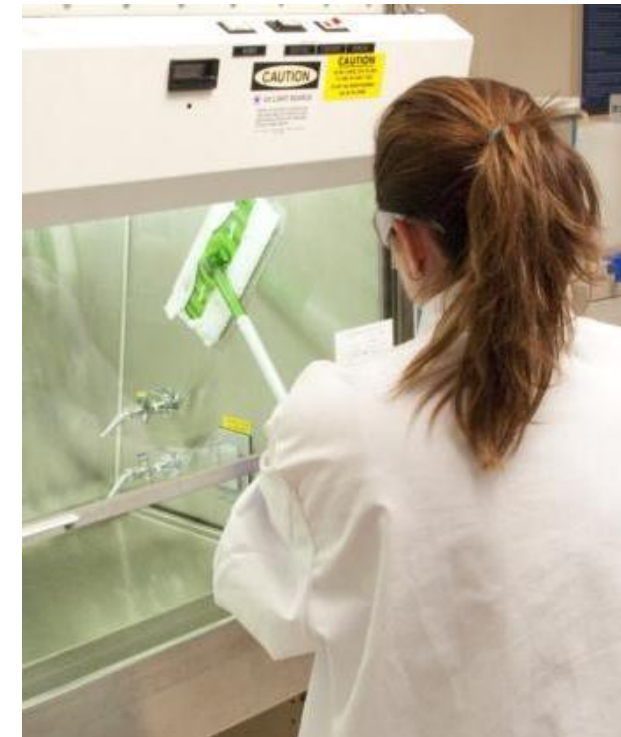


Using Bleach (Hypochlorite)

Using bleach may harm the stainless steel surfaces of the BSC- provide an environment for organisms



After disinfecting with bleach it is recommended that a second wipe down with distilled water or 70% EtOH be performed to remove residual bleach



ESB et les brûleurs à flamme nue (Bunsen)

- ❑ La chaleur perturbe l'écoulement d'air
- ❑ Peut endommager le filtre HEPA ou les adhésifs pour filtre
- ❑ Risque d'incendie
 - Désinfectants à base d'alcool
 - Étincelles (ex. moteur, interrupteurs)
- ❑ Raccordements pour gaz faiblement fixés
- ❑ Tuyau endommagé



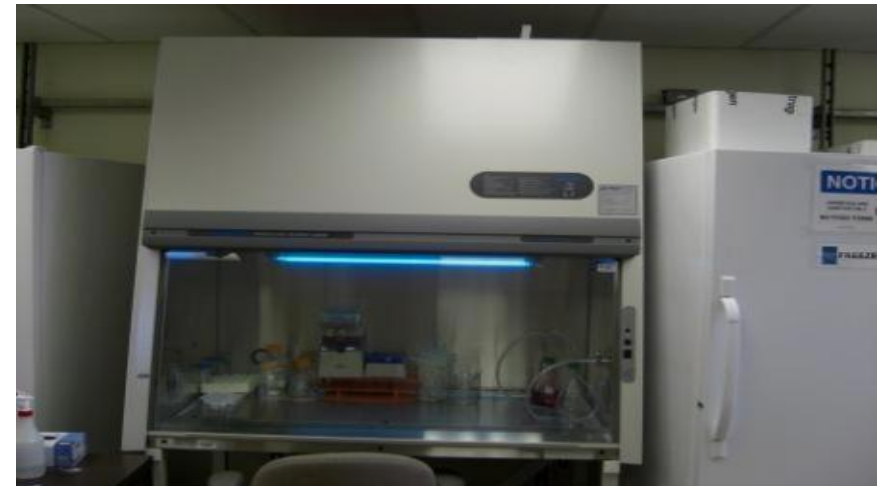
Alternatives à la flamme nue

- ❑ Utiliser des boucles et épandeurs stériles et jetables, etc.
- ❑ Utiliser des boucles réutilisables et pré-stérilisés, etc.
- ❑ Utiliser un four électrique / micro- incinérateur (pour les boucles, aiguilles, tubes de culture)



Les Lampes Germicides (UV)

- ❑ Peut endommager la peau et les yeux.
- ❑ Microorganismes plus résistants que d'autres
- ❑ Mauvais pouvoir de pénétration, "coup direct" est souvent plus efficace
- ❑ Un nettoyage régulière (hebdomadaire) est nécessaire
 - ✓ Coupez le courant
 - ✓ Essuyez l'ampoule (avec de l'éthanol), et laisser sécher
- ❑ Lumière bleue ≠ du rayonnement UV adéquat: utiliser un détecteur pour vérifier la puissance de la lampe UV



Lampes UV

- La lampe ne remplace pas les bonnes techniques aseptiques
- Il faut toujours décontaminer l'intérieur de l'ESB avec liquide germicide
- Une exposition UV est possible avec les surfaces réfléchissantes
 - Fermer la fenêtre à guillotine avant de mettre l'UV (mettre le ventilateur hors tension lorsque la ceinture est complètement fermé)
 - Vérifier que personne se trouve dans le laboratoire quand que l'UV est en marche

Chercher l'erreur



Chercher l'erreur

