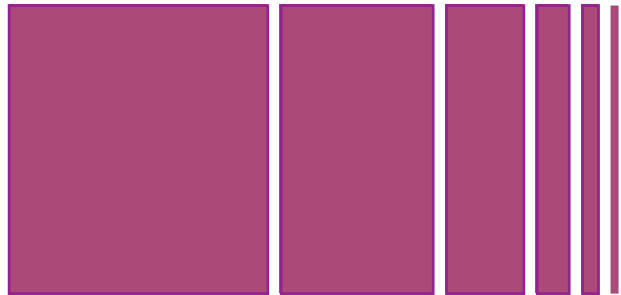


Recommandations de biosécurité relatives au traitement et aux méthodes d'inactivation des déchets biologiques contaminés.



**Section Biosécurité et Biotechnologie
Institut Scientifique de Santé Publique**

**Bibliothèque Royale de Belgique, numéro de dépôt légal: D/2006/2505/33
20 décembre 2006**

"Contained use Team"

Mme Laura Berghmans
Dr Ir Katia Pauwels
Mme Bernadette Van Vaerenbergh
Mme Chuong Dai Do Thi
Dr Philippe Herman

Chef de Section f.f.: Dr Ir Myriam Sneyers

Avertissement: le contenu de ce document repose sur les données disponibles dans la littérature et doit être considéré comme un ensemble de recommandations et non pas un ensemble de mesures contraignantes ou normatives.

Institut Scientifique de la Santé Publique
Section de Biosécurité et Biotechnologie
Rue J. Wytsman, 14
B-1050 Bruxelles – Belgique

Ce document est disponible à l'adresse suivante: <http://www.biosafety.be/CU/EN/CUMenu.html>

Table des matières

1. Introduction	3
2. Méthodes d'inactivation	4
2.1 Type de déchets	4
2.2 Type d'organismes	5
3. Méthodes de décontamination et de traitement des déchets	5
3.1 Procédés thermiques	5
3.1.1 <i>Systèmes basés sur la vapeur d'eau</i>	
3.1.1.1 <i>Autoclaves</i>	
3.1.1.2 <i>Micro-ondes</i>	
3.1.2 <i>Chaleur sèche</i>	
3.1.3 <i>Dépolymérisation</i>	
3.2 Procédés chimiques	8
3.2.1 <i>Désinfectants liquides</i>	
3.2.1.1 <i>Désinfectants récents</i>	
3.2.1.2 <i>Exemples de procédés chimiques</i>	
3.2.2 <i>Désinfectants sous forme gazeuse</i>	
3.2.2.1 <i>Formaldéhyde</i>	
3.2.2.2 <i>Oxyde d'éthylène</i>	
3.2.2.3 <i>Dioxyde de Chlore</i>	
3.2.2.4 <i>Ozone</i>	
3.2.2.5 <i>Technique de stérilisation au plasma</i>	
3.3 Techniques radioactives	18
3.4 Procédés biologiques	18
3.5 Gestion des eaux usées	18
4. Cas particulier	19
Désinfection des prions	
5. Tri des déchets	20
6. Stockage	20
7. Méthodes de destruction finale	21
Incinération	
8. Méthodes de contrôle	22
8.1 Mécanismes de contrôle	22
8.2 Indicateurs chimiques	23
8.3 Indicateurs biologiques	23
9. Glossaire	25
10. Références	27

1. Introduction

La problématique des déchets constitue une des questions les plus importantes en Europe. Les premières directives européennes dans le domaine datent de la période 1975-1976. Un développement important a été réalisé dans la directive de base (Directive 91/156/CEE) qui contient une définition plus claire de la notion de 'déchet'. Elle s'énonce comme suit: "*toute substance ou objet que le détenteur élimine, prévoit d'éliminer ou est requis d'éliminer*". Cette définition a été complétée par une classification des déchets en vue d'une uniformisation à l'échelle européenne (Catalogue européen des déchets, Disposition 93/3/CE). Depuis le 1er janvier 2002, les listes européennes existantes des déchets, le Catalogue européen des déchets (CED) et la "Hazardous waste list" (HWL) sont remplacés par la liste des déchets européens (EURAL). L'EURAL harmonise la répartition des déchets et la désignation des déchets dangereux dans les différents états membres.

En Belgique, la gestion des déchets est une matière régionalisée (Décret 2/07/1981, Décret 27/06/1996 et Ordonnance du 7/03/1991). La Région flamande et la Région wallonne ont adopté le Catalogue européen des déchets.

Pour les déchets dangereux, il existe une Directive européenne spécifique (91/689/CEE) qui vise à imposer un contrôle plus strict pour l'identification et l'enregistrement, la séparation, l'évacuation, le conditionnement, le stockage et le transport, l'intervention en situation dangereuse et d'urgence en comparaison avec les déchets non dangereux.

Dans ce document, seuls sont pris en considération les déchets provenant de l'utilisation confinée d'organismes génétiquement modifiés (OGM) et/ou pathogènes. Ce type de déchet fait partie des déchets dangereux. Les arrêtés régionaux (Arrêtés du 08/11/2001, du 06/02/2004 et du 04/07/2002) prévoient que les déchets biologiques et/ou les résidus biologiques (cadavres contaminés, excréments*, litière*, plantes contaminées, substrats contaminés etc.), ainsi que le matériel contaminé (verrerie, cages etc.), provenant de laboratoires, animaleries, et/ou de serres et chambres de culture, doivent subir une inactivation validée par une méthode appropriée avant l'élimination. Cette inactivation est obligatoire, indépendamment de la classe de risque de l'OGM ou de l'organisme pathogène et indépendamment de la classe de risque de l'utilisation confinée. Le non-respect de ces mesures jusqu'à l'élimination finale des déchets peut entraîner de conséquences négatives pour la santé publique et l'environnement.

Ce document présente une vue d'ensemble des méthodes d'inactivation et de décontamination des déchets, ainsi que des méthodes de validation.

* Sauf s'ils concernent des restes d'animaux transgéniques (arrêté du 04/07/2002 en Région flamande)

2. Méthodes d'inactivation

Le choix d'une méthode appropriée d'inactivation (**tableau 1**) dépend de plusieurs facteurs: le type (point 2.1) et la nature du déchet, le danger représenté par les (micro)-organismes présents (point 2.2) dans les déchets, l'efficacité des méthodes utilisées, etc. Dans tous les cas, la méthode utilisée pour l'inactivation doit être validée.

Si les déchets ne sont pas inactivés dans les installations (locaux où se déroulent les activités), les conteneurs de déchets fermés hermétiquement seront pris en charge par une société de traitement des déchets pour être incinérés. Le transport des déchets à l'intérieur des installations ainsi que le traitement des déchets par une société agréée doivent remplir les conditions des trois arrêtés régionaux relatifs à l'utilisation confinée de micro-organismes génétiquement modifiés et/ou pathogènes (Arrêtés du 8/11/2001, du 04/07/2002 et du 06/02/2004) et tout autre règlement en vigueur relatif au traitement de ce type de déchet.

Pour effectuer la stérilisation ou la désinfection l'utilisateur doit d'abord nettoyer le matériel, sans quoi la matière organique peut empêcher le désinfectant ou le procédé de stérilisation de réagir correctement.

La stérilisation à la vapeur d'eau est la procédure de choix pour le traitement des déchets biologiques dangereux provenant d'activités de classe de risque 2 et 3. En général, les méthodes thermiques sont les plus simples à valider et à contrôler (comparativement aux autres méthodes) et sont moins nocives pour l'environnement que l'inactivation chimique par exemple. Il est conseillé d'avoir recours à d'autres méthodes, uniquement si la stérilisation à la vapeur n'est pas praticable (NBN EN 12740).

2.1 Type de déchets

Tableau 1 : Méthodes d'inactivation recommandées par type de déchet¹


	Inactivation thermique	Incinération	Filtration
Déchet biologique solide	X	X	
Déchet biologique liquide	X		
Déchet biologique volatile			X

2.2 Type d'organismes

Différents types de (micro)-organismes réagissent différemment aux méthodes d'inactivation. Le prion résiste aux méthodes d'inactivation classiques (voir plus bas). Les spores bactériennes présentent également une résistance élevée grâce à leur structure complexe. Les spores bactériennes du genre *Bacillus* ou *Clostridium* sont de loin les plus résistantes de toutes les spores contre les antiseptiques et les désinfectants (Russel, 1990). Une échelle relative de résistance des micro-organismes aux désinfectants est présentée dans le **tableau 2** (adapté de McDonnell and Russell, 1999).

¹ Cela n'implique pas que d'autres méthodes ne pourraient pas convenir, (NBN EN 12740)

Tableau 2 : Echelle relative de résistance aux désinfectants.

 Moins sensible Plus sensible	Prions (CJD, BSE)
	Coccidia (<i>Cryptosporidium</i>)
	Spores (<i>Bacillus</i> , <i>C. difficile</i>)
	Mycobactéries (<i>M. tuberculosis</i> , <i>M. avium</i>)
	Cystes (<i>Giardia</i>)
	Petits virus non enveloppés (Poliovirus)
	Trophozoïtes (<i>Acanthamoeba</i>)
	Bactéries gram négatives (non-sporulantes) (<i>Pseudomonas</i> , <i>Providencia</i>)
	Champignons (<i>Candida</i> , <i>Aspergillus</i>)
	Grands virus non enveloppés (Enterovirus, Adenovirus)
	Bactéries gram positives (<i>S. aureus</i> , <i>Enterococcus</i>)
	Virus enveloppés (HIV, HBV)

3. Méthodes de décontamination et de traitement des déchets

On peut distinguer deux procédés différents, la stérilisation et la désinfection.

La stérilisation est un procédé validé durant lequel tous les (micro)-organismes (spores bactériennes comprises) sont tués ou inactivés, jusqu'à un seuil de un micro-organisme survivant sur 10^6 de départ.

La notion de désinfection est plus difficile à définir car l'activité d'un désinfectant peut varier en fonction de nombreux paramètres. Le classement suivant est proposé par le 'Center for Disease Control' (Garner and Favero, 1985):

- Les désinfectants de "haut niveau": éliminent tous les micro-organismes à l'exception de certaines spores bactériennes.
- Les désinfectants "intermédiaires": inactivent *M. tuberculosis*, les bactéries végétatives, la plupart des virus et des champignons mais ne tuent pas forcément les spores bactériennes.
- Les désinfectants de "bas niveau": tuent la plupart des bactéries, certains virus et champignons mais pas les bactéries plus résistantes telles que *M. tuberculosis* ou les spores bactériennes.

3.1 Systèmes thermiques

3.1.1 Systèmes basés sur la vapeur d'eau

En ce qui concerne la stérilisation à la vapeur d'eau, on peut distinguer deux méthodes classiques, les autoclaves et les micro-ondes.

Les autoclaves et les autres techniques basées sur la vapeur d'eau fonctionnent en général en condition saturée (la saturation de l'air en eau augmente en fonction de la température). L'efficacité de la décontamination au moyen de la vapeur d'eau est dépendante du facteur de charge qui influence la température et du temps de contact. Si on utilise des conteneurs (emballages, sacs), il faut s'assurer de la perméabilité de ce matériel.

Il est important que tout l'air soit évacué avant que le processus de stérilisation n'ait démarré. L'ensemble du processus doit être validé, et ceci y compris la charge, l'emballage approprié du conteneur et l'évacuation de l'air.

Une autre approche d'inactivation thermique est décrite plus bas, il s'agit du système basé sur les micro-ondes.

3.1.1.1 Autoclaves

Un autoclave consiste en une chambre métallique fermée hermétiquement et résistant plus ou moins à de hautes pressions. L'évacuation de l'air (isolateur) hors de la chambre est essentielle pour le bon déroulement du processus. L'air restant peut faire diminuer la température et également empêcher la vapeur d'eau d'atteindre l'entièreté du volume de la chambre. En général il y a deux façons d'évacuer l'air:

- Par "déplacement de la gravité", la vapeur d'eau est amenée sous pression dans la chambre. Comme l'air est plus léger que la vapeur d'eau, l'air est poussé dans la partie basse de la chambre, vers la sortie.

- Un autre système très efficace est la méthode de "pré-vide" (high vacuum), qui repose sur l'utilisation d'une pompe à vide pour évacuer l'air avant que la vapeur d'eau n'entre dans la chambre. Ce système nécessite un temps d'exposition plus court car l'air est éliminé de manière efficace.

Les recommandations pour le temps et la température à appliquer pour ce processus peuvent varier. Un cycle fréquemment employé est le suivant: 121° C pendant 30 minutes (Emmanuel *et al.*, 2004). Le matériel (conteneurs, sacs) dans lequel les déchets sont emballés doivent être perméables à la vapeur d'eau. Les composés organiques volatils, semi-volatils, les déchets chimiques dangereux, et les déchets radioactifs ne peuvent pas être 'autoclavés'.

Il est très important que l'autoclave soit placé dans un local bien ventilé et que les déchets fassent l'objet d'un tri correct au préalable de manière à ce qu'aucun composé chimique (formaldéhyde, phénols, mercure) ne soit évacué dans l'atmosphère. Il est possible que des composés volatils soient libérés lors de l'ouverture de l'autoclave. Il est recommandé d'attendre 10 à 15 minutes avant de décharger la chambre de l'autoclave (Hadar *et al.*, 1997).

L'autoclave doit être contrôlé de manière périodique afin de pouvoir garantir sa fiabilité (Werkgroep infectiepreventie, 2004):

- L'autoclave doit être entretenu de manière périodique selon les prescriptions du fabricant, le fonctionnement des clapets de sécurité, la température et les sondes de pression sont calibrés.
- De manière périodique, lors des entretiens, le fonctionnement de l'autoclave est vérifié en mesurant la température de la charge de manière à s'assurer que la vapeur d'eau pénètre correctement dans les éléments à stériliser.
- Pour détecter d'éventuelles fuites de la pompe à vide un test est réalisé une fois par semaine.
- La pénétration de la vapeur d'eau dans le matériel poreux est testée lors de chaque usage par le test de Bowie & Dick ou par une alternative comparable qui remplit les conditions de la norme européenne EN 867-4 (point 8, méthodes de contrôle).
- La pénétration de la vapeur d'eau dans les objets concaves est contrôlée lors de chaque usage par le test Helix² (point 8).

² Test utilisé uniquement pour les autoclaves qui possèdent un système de 'pré-vide' (High vacuum).

Remarque : certains autoclaves sont équipés d'un broyeur, ils présentent une alternative aux incinérateurs.

3.1.1.2 Micro-ondes

Il s'agit également d'un système basé sur la vapeur d'eau. Des micro-ondes sont envoyées dans une chambre fermée hermétiquement. Dans un premier temps les déchets pénètrent dans la chambre et sont humidifiés avec de l'eau. Les vibrations intenses dues aux micro-ondes provoquent des frottements ce qui a pour effet de générer de la chaleur, de telle manière que l'eau présente dans la chambre passe en phase vapeur (Reinhardt and Gordon, 1991). Cette approche permet le traitement des mêmes types de déchets que les méthodes décrites plus haut.

L'efficacité de la désinfection a été évaluée au moyen de tests bactériologiques et virologiques. Aux Etats-Unis, un test utilisant des spores de *B. subtilis* doit montrer une réduction de la contamination de 99,99 % pour une tonne de déchets (WHO, 1999b).

Une étude a montré qu'il n'y avait pas de croissance ($> 7 \log_{10}$ 'kill') pour les micro-organismes suivants, qui étaient présents dans les déchets traités: *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Nocardia asteroides*, *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium fortuitum* et le virus de l'hépatite du canard (Emmanuel *et al.*, 2004).

Les systèmes suivants sont utilisés en Europe: Medister, Sanitec, Sintion et Sterifant (Emmanuel *et al.*, 2004). Pour ces systèmes, équipés de broyeurs, une réduction du volume des déchets de 80% peut être atteinte.

3.1.2 Chaleur sèche

Pendant l'application du processus à la chaleur sèche il n'y a ni eau, ni vapeur ajoutée au système. Le déchet est échauffé par conduction ou naturellement activé par convection et/ou radiation thermique. En général le processus reposant sur la chaleur sèche utilise de hautes températures et des temps d'exposition prolongés. L'inactivation par la chaleur sèche est beaucoup moins efficace que la stérilisation à la vapeur d'eau car elle nécessite la dénaturation des protéines.

Ces hautes températures sont corrosives pour beaucoup de matériaux. Il faut également signaler que les températures inférieures à 160°C ont une efficacité limitée.

Le 'high velocity heated air' et le 'demolizer' sont des exemples de systèmes basés sur la chaleur sèche. Le premier dispose d'un broyeur. Les déchets qui peuvent être traités par ce système sont comparables à ceux traités par autoclave ou par les micro-ondes. Des tests microbiologiques réalisés avec la souche *B. subtilis var. niger*, montrent une réduction de 10^6 des micro-organismes vivants après un temps de traitement d'à peine trois minutes (Emmanuel *et al.*, 2004). Il faut noter, que les composés organiques volatils et semi-volatils, les déchets chimiques dangereux et les déchets radioactifs ne peuvent pas être pris en charge par cette méthode.

3.1.3 Dépolymérisation

Le système appelé 'Environmental Waste International (EWI) MD-1000' est un exemple de dépolymérisateur thermique. Ce système a été développé pour la gestion des déchets biologiques solides. La dépolymérisation ne doit pas être confondue avec la désinfection au moyen des micro-ondes ou de l'autoclave, ces deux derniers reposent sur l'usage de la vapeur d'eau.

Ce système consiste en la présence de trois chambres. Dans la première chambre les déchets sont pesés de manière à déterminer le temps optimal de traitement. Ensuite, tout l'oxygène est extrait des trois chambres et de l'azote y est injecté. Dans la deuxième chambre les déchets sont soumis à des micro-ondes à haute énergie. Cette technique fonctionne à des températures où des modifications chimiques peuvent se dérouler. C'est au coeur du déchet que la plus haute température est atteinte, dans la chambre elle-même la température se situe entre 150 et 350° C. Comme l'oxygène est absent il n'y a pas de combustion. Lors de cette étape le déchet est

transformé en un résidu stérile et riche en carbone. Le refroidissement et le broyage se déroulent dans la dernière chambre pour réduire davantage le volume des déchets. Les gaz libérés sont neutralisés.

Chaque jour, une moyenne de 1225 kg de déchets peuvent être pris en charge par ce procédé. Le cycle complet dure 50 à 80 minutes par charge. La masse et le volume sont réduits de 80%.

Pour le système MD-1000, le fabricant a montré qu'une réduction supérieure à $6\log_{10}$ peut être obtenue avec le test basé sur les spores de *Geobacillus stearothermophilus*.

3.2 Processus chimiques

Les désinfectants chimiques sont utilisés pour la décontamination des surfaces et des matériaux qui ne peuvent pas être autoclavés. Le choix d'un produit est fonction de la résistance du ou des micro-organisme(s) – voir **tableau 2**. L'efficacité de la procédure peut être influencée par la présence de matières organiques (sang, sérum, expectorations), la température, l'humidité relative, la concentration du produit et le temps de contact.

Le test d'inactivation microbienne, doit montrer une réduction de 10^4 de *G. stearothermophilus* (Emmanuel *et al.*, 2004).

3.2.1 Les désinfectants liquides

Les alcools

Propriétés principales:

Différents alcools ont une activité antimicrobienne démontrée. Le plus utilisé est l'alcool éthylique (éthanol), l'alcool isopropylique (isopropanol, propane-2-ol) et n-propanol. L'activité de ces alcools chute rapidement à des concentrations en dessous de 50% et devient optimale entre 60 et 90%. L'efficacité maximale est obtenue si un bon nettoyage préalable des surfaces a eu lieu. Un désavantage est la relative inactivité des alcools en présence de composés organiques. C'est un des rares désinfectants qui ne laisse pas de résidus toxiques après usage.

Toxicité:

Inflammable, ce désinfectant doit être utilisé dans un lieu frais et bien ventilé.

L'alcool peut réagir avec le caoutchouc ce qui entraîne la production de substances toxiques capables de provoquer l'irritation des muqueuses. Toutefois on peut noter que les risques pour la santé sont faibles. En Belgique, la valeur limite d'exposition professionnelle pour l'éthanol est fixée à 1000 ppm^3 et est de 400 ppm pour l'alcool isopropylique (valeur de 500 ppm pour une courte durée d'exposition⁴) (AR 11/10/2002).

Efficacité pour l'inactivation des micro-organismes:

Les alcools ont une activité étendue contre les bactéries végétatives (y compris les mycobactéries), les virus et les champignons, mais ils ne sont pas sporicides (McDonnell and Russell, 1999). D'une manière générale, l'alcool isopropylique est plus efficace contre les bactéries (Coulthard *et al.*, 1936) et l'éthanol convient mieux pour inactiver les virus (Klein *et al.*, 1983), bien que ceci dépende de la concentration du désinfectant et du micro-organisme. L'isopropanol n'est pas actif sur les virus hydrophiles (entérovirus et adénovirus), mais bien sur les virus lipophiles. Les deux alcools susmentionnés inactivent les virus de l'hépatite B et C et le HIV.

³ Mesurée ou calculée en fonction d'une période de référence (moyenne) de 8 heures (AR 11/10/2002)

⁴ Valeur limite d'exposition au-delà de laquelle il ne peut pas y avoir d'exposition et qui sauf indication contraire se rapporte à une période de 15 minutes (AR 11/10/2002)

Effets sur le matériel (équipement) :

Les matières synthétiques, par exemple le polyéthylène, peuvent durcir après un temps de contact prolongé avec l'alcool.

Chlore et composé chlorés

Propriétés principales :

Les préparations à base de chlore sont des désinfectants très répandus. Ils présentent un large spectre d'activité, sont peu coûteux et leur action est rapide. Leur usage est pourtant entravé par leur caractère corrosif, leur instabilité et leur inactivation en présence de matières organiques. Leur efficacité est déterminée sur base de la concentration en Hypochlorite (HOCl).

Trois types de préparations sont principalement utilisées: celles à base d'hypochlorite de sodium, de dichloroisocyanurate de sodium, et de N-chlore combiné à la monochloramine et tosylchloramide sodique (chloramine-T). Ce dernier composé a une plus grande stabilité, mais possède une efficacité considérablement ralentie (Werkgroep Infectiepreventie, 2004).

Toxicité :

Le danger potentiel est la production de produits de réaction carcinogènes lorsqu'une solution d'hypochlorite entre en contact avec du formaldéhyde (Gamble, 1977). Un mélange d'hypochlorite de sodium et d'acide entraîne la formation de gaz chlorés toxiques (Rutala, 1995). Le Chlore peut entraîner la mort par intoxication aiguë à partir de 1000 ppm. La valeur limite d'exposition professionnelle est fixée, en Belgique, à 0.5 ppm (valeur de courte durée : 1 ppm) (MB 11/10/2002). A long terme le chlore peut causer des oedèmes pulmonaires. A haute concentration, le chlore est un corrosif puissant pour les yeux, la peau et les voies respiratoires. Il peut causer des brûlures au niveau des voies respiratoires et de la peau.

Efficacité pour l'inactivation des micro-organismes:

De faibles concentrations de chlore libre (100 ppm = 0.01%) peuvent tuer rapidement des bactéries végétatives. Pour un effet mycobactéricide fiable des concentrations plus élevées sont nécessaires (1000 ppm = 0.1%) (Rutala *et al.*, 1991). Les virus, y compris HBV et HIV, sont inactivés sous l'action d'une solution chlorée à 1000 ppm pendant 5 minutes, à la condition qu'un nettoyage de la surface traitée ait été réalisé (Sattar and Sprinthorpe, 1991). Les champignons sont également sensibles aux mêmes conditions mais pour un effet fongicide complet sur les conidies d'*Aspergillus* des temps d'action courts requièrent de plus hautes concentrations (> 2000 ppm) selon Lensing et Oei, 1985.

Effets sur le matériel (équipement)

Les composés chlorés sont corrosifs pour les métaux. La Chloramine-T est relativement moins corrosive.

Iode et composés iodés

Propriétés principales :

L'iode est moins réactif que le chlore. Les solutions iodées aqueuses et alcooliques (teintures) sont irritantes, très colorantes et sont relativement instables. Les iodophores (iode couplé à un porteur) constituent une alternative car ils permettent d'éviter ces inconvénients. Ce type de complexe contient permet que de l'iode libre soit libéré progressivement à faible dose. Le Povidon et le Poloxamer sont les plus répandus.

L'efficacité de l'iode et des composés iodés est influencée négativement par la matière organique dans une moindre mesure toutefois que les composés chlorés.

Toxicité:

Les solutions iodées aqueuses et alcooliques sont irritantes et colorantes. Les iodophores sont relativement peu toxiques et non colorants. En Belgique la valeur d'exposition à l'Iode est fixée à 0.1 ppm (AR 11/10/2002).

Efficacité pour l'inactivation des micro-organismes:

Comme déjà mentionné plus haut l'iode est moins réactif que le chlore, mais est un bactéricide, fongicide, mycobactéricide et virucide rapide. Il est aussi un sporicide mais dans une moindre mesure (Gottardi, 2001). Les virus non-lipidiques et les parvovirus sont moins sensibles que les virus à enveloppes lipidiques (Prince *et al.*, 1991). Les iodophores possèdent une action germicides mais sont moins actifs contre les champignons et les spores (Rutala, 1995).

Effets sur le matériel (équipement)

L'iode, tout comme le chlore, est corrosif pour les métaux.

Formaldéhyde

Propriétés principales:

Il s'agit d'un désinfectant et d'un agent de stérilisation utilisé autant sous forme liquide que gazeuse. La forme liquide (formaline) est une solution aqueuse, qui contient approximativement 34-38% de formaldéhyde ainsi que du méthanol pour ralentir la polymérisation. Le formaldéhyde est bactéricide et sporicide, mais son action est plus lente que le glutaraldéhyde. Il se lie facilement aux protéines et est moins efficace en présence de matière organique.

Toxicité:

L'exposition aiguë est très irritante pour les yeux, les voies respiratoires supérieures. Les expositions répétées peuvent déclencher des réactions allergiques cutanées, oculaires et respiratoires. L'ingestion de formaldéhyde peut être fatale et l'exposition prolongée à de faibles quantités dans l'air ou sur la peau peut favoriser des complications respiratoires de type asthmatiques et des irritations cutanées telles que la dermatite. Des concentrations de 100 ppm présentent un danger immédiat pour la santé.

Diverses études ont montré que le formaldéhyde peut être carcinogène (Blair *et al.*, 1990; Partanen *et al.*, 1990; Sterling and Weinkam, 1994), plus spécifiquement dans le cas des cancers du nez et du poumon (OSHA Fact Sheet). Les lignes directrices de l'OMS relative à l'exposition des travailleurs recommande 1 ppm pour 5 minute sans dépasser 8 pics pendant une période de travail (8 heures). En Belgique, le formaldéhyde est classé comme un produit cancérigène et la valeur de courte durée est fixé à 0.3 ppm (AR 11/10/2002).

Efficacité pour l'inactivation des micro-organismes:

Le formaldéhyde (en solution aqueuse) est bactéricide, sporicide, mycobactéricide, fongicide et virucide (Acklund *et al.*, 1980; Power, 1995; Rubbo *et al.*, 1967; Williams, 1980)

Effets sur le matériel (équipement)

Le formaldéhyde est légèrement corrosif pour la plupart des métaux à l'exception de l'acier inoxydable et de l'aluminium.

Glutaraldéhyde

Propriétés principales :

Les propriétés du glutaraldéhyde sont comparables à celles du formaldéhyde, mais il est moins volatil. Il présente une meilleure activité sporicide que le formaldéhyde. Il peut également être utilisé comme stérilisant et comme désinfectant de « haut niveau ». La solution aqueuse de glutaraldéhyde est un acide et n'est pas sporicide tel quel. Les propriétés sporicides du

glutaraldéhyde sont activées à pH légèrement alcalin (7.5 – 8.5). La conservation de la solution activée est limitée (14 à 28 jours). Des produits disponibles sur le marché tels que le 'glutaraldehyde-phenate', le 'potentiated acid glutaraldehyde' et le 'stabilized alkaline glutaraldehyde' offrent un temps de conservation prolongé. Le glutaraldéhyde conserve son activité en présence de matière organique. Il a été montré que jusqu'à 20% de sérum et 1% de sang n'avaient pas d'effet délétère sur l'activité du glutaraldéhyde (Borick *et al.*, 1964).

Toxicité:

Il s'agit d'une molécule controversée à cause de ses effets nuisibles pour la santé (Russell and Hopwood, 1976). Le glutaraldéhyde peut être fatal lorsque inhalé, il est très irritant pour les muqueuses et peut causer des réactions allergiques. Il est également dangereux par contact cutané. Son utilisation nécessite une bonne ventilation. Dans l'adaptation de 1999 du document : 'Practice for safety, health and welfare at work - chemical agents - regulations (1994)', la valeur limite d'exposition des travailleurs préconisée est de 0.2 ppm à 0.1 ppm. En Belgique, la valeur limite est fixée à 0.2 ppm (AR 11/10/2002).

Efficacité pour l'inactivation des micro-organismes:

L'inactivation des micro-organismes *in vitro* est bien connue (Scott *et al.*, 1991). Une solution aqueuse contenant 2% de glutaraldéhyde à un pH de 7.5-8.5 inactive les bactéries végétatives en moins de 2 minutes, les champignons et les virus en moins de 10 minutes, les spores de *Bacillus* et *Clostridium* spp. endéans les 3 heures (Borick *et al.*, 1964, Scott and Gorman, 1991) et les spores de *Clostridium difficile* en 20 minutes (Rutala *et al.*, 1993).

Deux études montrent qu'une solution de glutaraldéhyde à 2% peut inactiver des organismes résistants aux désinfectants tels que *M. tuberculosis* en 20 minutes à température ambiante (Cole *et al.*, 1990; Rutala, 1995)..

Effets sur le matériel (équipement)

Les solutions aqueuses de glutaraldéhyde sont corrosives pour la plupart des métaux.

Peroxydes

Propriétés principales :

Le peroxyde d'hydrogène est un biocide très répandu pour la désinfection et la stérilisation ainsi que comme antiseptique. Ce produit est disponible sur le marché dans une large gamme de concentration allant de 3 à 90%. Son action dépend de plusieurs facteurs. Des concentrations d'au moins 10 à 30% sont nécessaire pour obtenir un effet sporicide significatif (McDonnell and Russell, 1999). La température exerce un effet remarquable sur l'activité sporicide des peroxydes. A température ambiante le peroxyde d'hydrogène est un sporicide très lent, mais son activité est significativement accrue si la température augmente de 10°C. Il a tendance à être instable et sa décomposition est augmentée en présence de métal, de sels, de lumière et de chaleur. Son activité est influencée par le pH, les solutions acides lui sont favorables.

L'acide peracétique est considéré comme un meilleur biocide que l' H_2O_2 et est également présenté comme plus « sûre ». L'activité de l'acide peracétique est un peu réduite par la présence de matière organique. Il est plus actif à pH 5 qu'à pH neutre. Une combinaison d'acide peracétique et d' H_2O_2 peut aussi être utilisée comme solution désinfectante.

Toxicité:

L' H_2O_2 est considéré comme respectueux de l'environnement (rapide dégradation en eau et oxygène). L'acide peracétique à de hautes concentrations peut être un co-carcinogène et cause, à des concentrations de 1% ou supérieures, des tumeurs de la peau chez la souris (Bock *et al.*, 1975). Aucune activité mutagène n'a été démontrée (ECETOC, 2001). En Belgique, la valeur limite d'exposition des travailleurs a été fixée à 1 ppm (AR 11/10/2002).

Efficacité pour l'inactivation des micro-organismes:

Le peroxyde d'hydrogène a la capacité d'inactiver de nombreuses bactéries (Wardle and Renninger, 1975), des virus (Kline and Hull, 1960; Mentel and Schmidt, 1973), des levures, des champignons et des spores bactériens (Toledo *et al.*, 1973). D'une manière générale il est plus efficace contre les bactéries gram-positives que contre les gram-négatives. Des temps de contacts et des concentrations plus élevés sont nécessaires pour obtenir une action sporicide. L'effet sporicide augmente significativement lorsque le peroxyde d'hydrogène est utilisé sous sa forme gazeuse (point 3.2.2.5). L'acide peracétique présente une activité sporicide, bactéricide, virucide et fongicide à de faibles concentrations (< à 0.3%). Il est considéré comme un biocide plus efficace que l' H_2O_2 (Block, 2001).

Effets sur le matériel (équipement)

L' H_2O_2 et l'acide peracétique sont très corrosifs à des concentrations de 10% ou plus pour certains métaux comme l'aluminium ou le laiton. Le caoutchouc et le textile peuvent également être endommagés à des concentrations utiles pour la désinfection.

Phénols

Propriétés principales :

Il existe une vaste gamme de dérivés du phénol. L'orthophénylphénol et l'orthobenzyl-parachlorophénol sont deux produits fréquemment utilisés. Les phénols ne sont que faiblement inactivés par la matière organique.

Toxicité:

Les phénols sont toxiques pour la peau, les muqueuses et dégagent une odeur désagréable. En Belgique, la valeur limite d'exposition est fixée à 2 ppm (AR 11/10/2002).

Efficacité pour l'inactivation des micro-organismes:

Les dérivés du phénol sont bactéricides, fongicides, et mycobactéricides (Rutala *et al.*, 1991, Sattar and Sprinthorpe, 1991). Ils sont inefficaces contre les spores, les virus hydrophiles et l'HBV, tout au moins aux concentrations et temps de contact usuels.

Effets sur le matériel (équipement)

Les résidus de désinfectants doivent être éliminés avec précaution après usage. Les phénols peuvent souiller les objets et peuvent être corrosifs pour les métaux.

Composés à base d'ammonium quaternaire

Propriétés principales :

Les composés à base d'ammonium quaternaire forme un grand groupe de substitués organiques associés aux ammoniums qui possèdent des propriétés antimicrobiennes et nettoyantes. Il s'agit d'un puissant désinfectant de surface. Au fil du temps, plusieurs générations de composés à base d'ammonium quaternaire ont été développées. De nos jours ce sont les ammoniums quaternaires de la troisième génération qui sont les plus utilisés. Les solutions de générations plus récentes sont disponibles et présentent une toxicité encore moindre.

Les ammoniums quaternaires sont inactivés par des matières tels que le coton et la gaze qui absorbent le principe actif. Associés à de l'eau dure ou des résidus de détergents anioniques les ammoniums quaternaires sont également inactivés (ceux de la nouvelle génération dans une moindre mesure). Ils sont incolores, inodores, stables et bon marché.

Toxicité:

Les ammoniums quaternaires utilisés à haute concentration sont irritants pour la peau et les yeux, mais ne causent pas d'irritation des voies respiratoires.

Efficacité pour l'inactivation des micro-organismes:

Les solutions d'ammonium quaternaires disponibles dans le commerce sont algostatiques, bactériostatiques, mycobactériostatiques, sporostatiques, et fongostatiques à de faibles concentrations allant de 0.5 à 5 ppm (Hueck *et al.*, 1966). Ils sont algicides, bactéricides, fongicides et virucides (virus lipophiles) à des concentrations moyennes de 10-50 ppm (Klein and DeForest, 1963; Resnick, 1986). Ils possèdent une activité supérieure sur les bactéries gram positives que sur les bactéries gram négatives (Adair *et al.*, 1971). Même à hautes concentrations, ils ne sont pas mycobactéricides, ni sporicides, ni virucides contre les virus hydrophiles (Best *et al.*, 1990; Klein and DeForest, 1963; Russell, 1996).

Effets sur le matériel (équipement)

Ces composés ne sont pas corrosifs pour le métal.

Le **tableau 3** présente une synthèse du mode d'action et de la toxicité des désinfectants décrits plus haut.

Tableau 3 : Résumé de l'action et de la toxicité des principaux désinfectants⁵.

Désinfectants	Action bactéricide	Action mycobactéricide	Action fongicide	Action virucide	Action sporicide	Toxicité
Alcool	Très actif	Très actif	Très actif	Très actif	Inactif	Modérée
Dérivés chlorés	Très actif	Actif	Actif	Très actif	Peu actif	Modérée
Formaldéhyde	Très actif	Très actif	Très actif	Très actif	Peu actif	Elevée
Glutaraldéhyde	Très actif	Très actif	Très actif	Très actif	Très actif	Elevée
Peroxyde d'hydrogène	Moins actif contre Staphylo- et Entérocoques	Actif	Actif	Actif	Moins actif	Faible
Iodophore	Actif	Actif	Peu actif	Actif	Inactif	Modérée
Acide peracétique	Très actif	Actif	Actif	Actif	Actif	Elevée
Dérivés phénoliques	Très actif	Très actif	Très actif	Peu actif	Inactif	Elevée
Ammoniums quaternaires	Peu actif contre les bactéries gram négatives	Inactif	Peu actif	Peu actif	Inactif	Faible

3.2.1.2 Désinfectants récents

L'*ortho-phthalaldéhyde* (OPA) est un agent chimique stérilisant récent de bonne qualité. Il présente de nombreux avantages comparativement au glutaraldéhyde (Gregory *et al.*, 1999):

- Un temps d'action plus court (12 minutes vs 45 min)
- Une action mycobactéricide supérieure, y compris contre les souches résistantes au glutaraldéhyde (mycobactéries et spore de *B. subtilis*) (Walsh *et al.*, 1999);
- Ne nécessite aucune activation;
- N'est pas irritant pour les yeux ni pour les voies respiratoires;
- A une grande stabilité à un pH allant de 3 à 9;
- A une odeur presque imperceptible.

⁵ Adapté de 'WHO Safe management of wastes from health-care activities', WHO Geneva 1999

L'inconvénient toutefois est qu'il colore les protéines en gris et est plus coûteux que le glutaraldéhyde.

La *Surfacine* est un nouvel agent antimicrobien à action prolongée. Des études préliminaires ont montré que des surfaces traitées présentent des résultats excellents dans l'élimination de bactéries résistantes aux antibiotiques (par exemple les *Enterococcus spp.* Vancomycine résistants), avec des quantités de 250 CFU/cm² (Colony Forming Unit par cm²) pour au moins 13 jours (Rutala, et al., 2000). Selon les données du fabricant, il semble que des titres de 10⁶ CFU/ml de bactéries, de levures, de champignons et de virus sont inactivés (Rutala and Weber, 2001). Un effet antimicrobien prolongé est observable. Les surfaces "coatées" avec ce désinfectant sont résistantes à la formation de biofilm. La *Surfacine* ne présente pas de toxicité pour les cellules de mammifères.

L'eau superoxygénée est produite sur place à l'aide d'un appareil contenant de l'eau et du chlorure de sodium, une solution à pH 5-6,5 est préparée par électrolyse pour une durée de conservation de 24 heures. L'activité antimicrobienne a été testée pour les bactéries, les mycobactéries, les virus, les champignons et les spores (Tanaka et al., 1996; Shetty et al., 1999). Des résultats montrent que l'eau superoxygénée permet d'obtenir une réduction de 5log₁₀ de *Mycobacterium tuberculosis*, *M. chelonae*, poliovirus, HIV, MRSA, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, en absence de matériel organique (Rutala and Weber, 2001). L'activité biocide de l'eau superoxygénée est considérablement diminuée en présence de matière organique.

3.2.1.3 Exemples de techniques chimiques

'WR² Tissue Digestion Process'

Le Process WR² fait usage de l'hydrolyse alcaline couplée à de hautes températures afin de détruire les protéines, les acides nucléiques, les hydrates de carbone (plus résistants), les lipides ainsi que les (micro)-organismes infectieux (y compris les prions) des cellules et des tissus en une solution aqueuse stérile qui peut être éliminée via les égouts.

Un 'WR² Tissue Digestor', se compose d'une cuve à vapeur isolée et inoxydable. Pendant le processus, une certaine quantité d'eau et de base forte sont ajoutées dans la cuve, ceci proportionnellement au poids de déchet à traiter. Ces deux quantités sont déterminées par des tests préalables. Un cycle standard de digestion dure 3 heures à une température de 150°C. Le produit final est une solution pure, stérile, de couleur violette/brune, légèrement alcaline avec une odeur de savon. Il existe des systèmes automatiques et semi-automatiques avec des capacités allant de 5 kg (pour les rongeurs et les petites quantités de déchets de soins de santé) à 4536 kg (pour les gros animaux tels que les bovins ou les équins).

Ce système présente les avantages suivants:

- Les tissus animaux, humains et les micro-organismes sont transformés en une solution aqueuse, neutre et prête à être évacuée via les égouts.
- Le déchet est réduit et stérilisé. Pendant le cycle le volume et le poids du déchet sont réduits de plus de 97%.
- Il élimine les tissus marqués à l'aide d'isotopes radioactifs, neutralise les fixateurs toxiques (formaldéhyde et glutaraldéhyde), les substances cytotoxiques et les autres composés toxiques.
- Cette méthode est respectueuse de l'environnement, il n'y a pas de rejets toxiques dans l'atmosphère et le produit final issu du processus n'est pas dangereux.
- Le coût de ce système ne représente qu'une fraction du coût de l'incinération.

'Newster'

Il s'agit d'un appareil développé spécialement pour les petits et moyens hôpitaux. Il combine un processus chimique (NaClO) et thermique. Le produit final est composé de granulés gris-bruns de plus ou moins 2 à 3 mm de diamètre. L'équipement a une capacité de traitement de 30 kg/heure et

le processus se déroule en une heure et demie environ. L'utilisation d'un désinfectant à base de chlore peut représenter un risque en soi, des chlorures peuvent être présents dans le déchet décontaminé ou également de nouveaux composés chlorés toxiques tel que le trihalométhane (Emmanuel *et al.*, 2004).

3.2.2 Désinfectants sous forme gazeuse

3.2.2.1 Formaldéhyde

Le formaldéhyde est le désinfectant le plus recommandé pour la décontamination des locaux. En principe cette procédure n'est appliquée que pour les niveaux de confinement 3 et 4, sous des conditions bien précises. Cette procédure doit être réalisée par du personnel bien formé car l'exposition à des dérivés chimiques dangereux est possible. Le protocole le plus approprié est le chauffage du paraformaldéhyde dans un local rendu étanche. Après un temps d'au moins 6 heures, le formaldéhyde doit être neutralisé à l'aide de carbonate d'ammonium (Luftman, 2005). Avant que le personnel ne puisse retourner dans le local il faut s'assurer que la concentration de formaldéhyde et de carbonate d'ammonium soient sous les limites d'exposition autorisées.

Le formaldéhyde peut également être utilisé pour la stérilisation à basse température. Il s'agit d'une méthode qui a été adoptée dans différents pays européens et l'utilisation en toute sécurité de ce processus de stérilisation pour les matériaux sensibles à la température est bien documentée (Nystrom, 1991).

En 2004 l'USEPA (United States Environmental Protection Agency) et l'IARC (International Agency for Research on Cancer) ont classé le formaldéhyde dans la catégorie des carcinogènes. Les systèmes modernes de stérilisation à la vapeur à basse température & formaldéhyde (LTSF pour Low-temperature steam & formaldehyde) font encore usage de solutions de formaldéhyde à faible concentration (2%). Il est important de confirmer que les résidus de formaldéhyde formés demeurent sous une valeur déterminée. Jusqu'à ce jour, il n'y a pas de normes de sécurité standardisée en ce qui concerne la valeur résiduelle du formaldéhyde (Kanemitsu *et al.*, 2003). Dans la norme EN 14180 la limite de sécurité de 200 µg de formaldéhyde est utilisée et il est admis que la présence de 5µg/cm² ne doit pas être dépassée (Mariscal *et al.*, 2005). Dans le cas où l'approche reposant sur le gaz d'oxyde d'éthylène n'est pas "utilisable" ou autorisée la stérilisation LTSF peut constituer une alternative, en effet, son efficacité est comparable à l'oxyde d'éthylène (Kanemitsu *et al.*, 2005).

3.2.2.2 Oxyde d'éthylène

L'oxyde d'éthylène est efficace contre tous les (micro)-organismes tels que les bactéries, les virus et les spores bactériennes (WHO, 1999). Il s'agit d'une approche appelée "stérilisateur à froid". L'oxyde d'éthylène est utilisé à température ambiante.

Il présente bon nombre d'inconvénients:

- L'oxyde d'éthylène est toxique, autant sous forme gazeuse que liquide. Il est très toxique pour la peau et les yeux. Des ulcérations et des brûlures de la peau peuvent apparaître quelques heures après une exposition. L'oxyde d'éthylène agit sur le système nerveux central et sont inhalation de hautes concentrations (à partir de 1000 ppm) provoque des maux de tête, des vertiges, des nausées et des pertes d'équilibre. L'IDLH (Immediate Dangerous to Life and Health) représente une valeur de 800 ppm. En Belgique la valeur limite d'exposition est fixée à 1 ppm (MB 11/10/2002). Cette molécule est classée comme substance cancérigène en Belgique (MB 9/11/2003). Son usage n'est plus recommandé pour le traitement des déchets (WHO, 1999).
- L'efficacité du composé est dépendante du degré d'humidité des (micro)-organismes, de ce fait, la charge doit être préalablement conditionnée.
- L'oxyde d'éthylène a tendance à s'accrocher aux matières synthétiques.
- Après stérilisation à l'oxyde d'éthylène, une bonne aération est nécessaire pour que la concentration rejoigne un niveau acceptable.

3.2.2.3 Dioxyde de chlore

Les études sur l'usage du dioxyde de chlore sous sa forme gazeuse sont moins répandues que celles sur son utilisation en solution aqueuse (désinfectants pour purifier l'eau et dans l'industrie alimentaire). Il s'agit d'un puissant oxydant actif contre la plupart des bactéries (Sy *et al.*, 2005), des virus et des spores (Jeng and Woodwordth, 1990). Le dioxyde de chlore présente l'avantage d'être moins dangereux que les sous-produits (dérives chlorés telles que les dioxines). Cette molécule est très irritante pour les yeux, la peau et les voies respiratoire. L'inhalation de la forme gazeuse peut causer des oedèmes pulmonaires. Un contact au-dessus des valeurs limites d'exposition peut conduire à la mort. Les expositions de longue durée ou répétées peuvent avoir pour conséquence la bronchite chronique. En Belgique, la limite d'exposition est fixée à 0.1 ppm et pour une courte durée à 0.3 ppm (AR 11/10/2002).

3.2.2.4 Ozone

L'ozone est un stérilisant puissant, ceci grâce à sa propriété oxydante exceptionnelle. Il est efficace contre les champignons, les bactéries, les virus et les spores bactériens (Rickloff, 1987). Il est généralement admis que l'ozone est un bactéricide et un virucide plus efficace que ne le sont le chlore ou le dioxyde de chlore. L'ozone résiduel se transforme spontanément en oxygène non toxique (Broder *et al.*, 2004). A de hautes concentrations, l'ozone inhalé est dangereux pour la santé. En Belgique, la valeur limite est fixée à 0.1 ppm (valeur courte durée : 0.3 ppm) (AR 11/10/2002).

3.2.2.5 Technique de stérilisation au plasma

Cette technique repose sur le principe suivant : la création d'un vide important dans lequel entre en contact une masse de gaz et un champ magnétique. Des radicaux (dits 'radicaux libres') très réactifs se trouvent dans l'enceinte.

L'utilisation du gaz plasma représente une alternative intéressante pour la stérilisation grâce à ses propriétés intrinsèques. Dans cette méthode, le ou les gaz n'ont pas d'effet biocide avant d'avoir été activés par une décharge électrique. Les réactions de ces particules ne se produisent que quelques millisecondes après l'application du champ électrique. Cela signifie qu'il n'y a pas nécessité de phase d'aération, ce qui présente moins de risque pour le personnel.

Ratner et ses collègues (1990) ont montré que la stérilisation au plasma est efficace avec la plupart des gaz testés: O₂, N₂, air, H₂, halogènes, N₂O, H₂O, H₂O₂, CO₂, SO₂, SF₆, aldéhydes, et acides organiques etc.

Les stérilisateur plasma sont contrôlés à l'aide de *B. subtilis*, *Geobacillus stearothermophilus* et une bactérie gram-négative comme *E. coli* (Moisan *et al.*, 2001). Deux stérilisateur plasma sont commercialisés : l'un basé sur le peroxyde d'hydrogène (Sterrad; Rutala and Weber, 2001) et l'autre basé sur l'utilisation d'acide péraétique (Plazlyte system, Abtox, Inc. Mundelein, IL; Wilson, 1994). Des études comparatives entre l'utilisation du gaz d'oxyde d'éthylène, le peroxyde d'hydrogène (forme gaz au plasma) et la méthode de stérilisation LTSF montre que la stérilisation plasma peut ne pas être optimale dans certaines circonstances, dans le cas particuliers des objets aux formes complexes (Kanemitsu *et al.*, 2005).

Exemple: vapor phase hydrogen peroxide (VPH, H₂O₂)

Il s'agit d'une technique "basse température" qui présente une faible toxicité qui aboutit à la formation d'eau et d'oxygène. En d'autres termes il s'agit d'une alternative à la stérilisation à l'aide de formaldéhyde utilisée couramment pour la décontamination des locaux. Le processus dure plus ou moins une heure et se déroule à 45-50°C sous un faible taux d'humidité. Ce système est efficace contre les bactéries, les virus, les champignons et les spores bactériens. Le principe de fonctionnement repose sur la production de radicaux libres. Kahnert et ses collègues (2005), ont montré que le système VPH permet une réduction et une élimination des contaminations dues à *M. tuberculosis* dans un local. Pour ce type de fumigation, une solution d' H₂O₂ à 35% est utilisée

pour obtenir une vapeur à 0.4 mg/L. Dans cette étude, *Geobacillus stearothermophilus* a été utilisé comme indicateur biologique. Dans une autre étude, il est montré que la méthode VPH est efficace contre une souche toxique de *Cl. botulinum*, une souche non toxique de *Clostridium spp.* et *Geobacillus stearothermophilus*, sur des surfaces sèches et inoxydables (Johnston *et al.*, 2005).

3.3 Techniques radioactives

Si l'on expose du matériel biologique à de fortes doses de radiations ionisantes (par exemple les rayons X ou gamma), l'ADN peut être sérieusement endommagé. Ce type d'irradiations peut être obtenu par exemple au départ de Cobalt-60, source de rayons gamma. La technique du 'e-beam' est un autre système dans lequel les radiations ionisantes sont produites à l'aide d'un canon à électrons. Les composés volatils, semi-volatils et organiques, les déchets chimiques dangereux, les déchets radioactifs ne peuvent pas être traités à l'aide de ce système.

Les approches, autres que le Cobalt-60, qui ne font pas usage d'une source radioactive et ne rejettent pas de matières dangereuses à l'exception d'une petite quantité d'ozone. Il faut toutefois s'assurer que le seuil absolu n'est pas dépassé.

Les travailleurs doivent être protégés contre les radiations ionisantes. La dose limite effective pour l'exposition occupationnelle des personnes a été fixée à 20 millisieverts pour 12 mois consécutifs (AR 20/07/2001).

Les bactéries montrent une résistance variable contre les radiations ionisantes, ceci est fonction de la capacité de réparation de l'ADN. *Geobacillus steaorothermophilus* et *Bacillus subtilis* sont recommandées pour le contrôle de l'inactivation à l'aide des radiations. Cependant, les spores de *B. pumilus* sont utilisés comme indicateur biologique standard pendant la stérilisation des produits médicaux, car ces spores présentent une plus grande résistance aux radiations. D'autres indicateurs biologiques tel que *Deinococcus radiodurans* sont aussi utilisés parce qu'ils présentent une résistances très élevée aux radiations (Emmanuel *et al.*, 2004).

3.4 Systèmes biologiques

Jusqu'à ce jour, peu de systèmes de décontamination biologiques font l'objet de développement. Bio Conversion Technologies Inc. (BCTI) développe en collaboration avec le Virginia Center for Inovative Technologies un système de gestion des déchets qui repose sur des processus biologiques (Crumbley, 1995; Emmanuel *et al.*, 2004). Ce système s'appuie sur l'utilisation d'enzymes afin de décontaminer les déchets. Après la phase de décontamination, la boue obtenue est pressée afin d'en extraire l'eau. Cette technologie serait adaptée pour les grandes quantités de déchets (10 tonnes/jour).

3.5 Traitement des eaux usées

Les "kill tanks" sont utilisés pour l'inactivation des (micro-)organismes présents dans les liquides à l'aide de vapeur d'eau, de chaleur, d'agents chimiques ou de radiations ionisantes (NBN EN 13311-5). Il faut noter qu'une série d'inconvénients sont associés aux "kill tanks" (contrôle, coût etc.). Il n'existe pas de modèle standard, les "kill tanks" sont conçus sur mesure ce qui constitue une difficulté en cas de contrôle (pas de standardisation).

Le système appelé 'Continuous Effluent Decontamination' de la firme Steris est une nouvelle alternative. Ce système est conçu pour remplacer les "kill tanks" 'multi-step' et présentent un nombre d'avantages en terme d'efficacité, de fiabilité, de sécurité et de coût. L'espace requis pour ce système représente 2/3 à 3/4 de l'espace occupé habituellement par un 'kill tank'. Ce système présente une zone de chauffage et deux zones de refroidissement indépendantes. Les déchets liquides sont amenés dans une première chambre. Il est possible, en cas de nécessité, de décontaminer automatiquement cette chambre par stérilisation à la vapeur d'eau. Cette chambre a une capacité de 1000 à 8000 litres. Ensuite les liquides sont traités à la vapeur à 150°C dans une deuxième chambre. Les liquides décontaminés sont alors refroidis. Cette étape se déroule lors d'une deuxième phase indépendante de la précédente. Quand la température souhaitée est atteinte lors de

la première phase la phase de refroidissement peut démarrer. Pendant cette dernière phase, le liquide décontaminé doit être refroidi à une température inférieure à 60°C, de sorte que l'élimination du liquide traité se fasse en toute sécurité. Ce système permet de traiter 100 à 1000 litres/heure.

La firme WR2 a développé un système appelé 'Effluent Décontamination System' (EDS). Ce système peut prendre place dans une installation de la taille d'un laboratoire ou d'une installation de grande taille.

Récemment la firme EWI a placé le 'FS6000 sterilizer' sur le marché. Ce système réunit deux techniques de stérilisation, avec l'utilisation de micro-ondes hautement énergétiques et un contact avec une température et une pression supérieure à la pression atmosphérique (plus de 4 atm ou 60 psig). Le 'surchauffage' et l'exposition directe aux micro-ondes procurent une inactivation complète des organismes pathogènes et des spores. Une réduction de plus de 6log₁₀ est observée avec l'indicateur *G. stearothermophilus*. Le processus se déroule en à peu près 2 heures. Une moyenne de 7600 litres d'eau contaminée peuvent être inactivés en 9 heures.

4. Cas particulier

Les agents infectieux non conventionnels responsables des TSE ('Transmissible Spongiform Encephalopathies') sont particulièrement résistants aux méthodes de décontamination courantes. Il a été montré que la plupart des désinfectants (alcool, formaldéhyde, peroxyde d'hydrogène, phénols etc.) sont inefficaces pour l'élimination des prions. Quatre agents chimiques permettent une réduction de plus de 4log: le chlore, les composés phénoliques, le thiocyanate de guanidine et l'hydroxyde de sodium (Ernst & Race, 1993; Manuelidis, 1997). De ces 4 composés, le chlore est celui qui présente la meilleure efficacité. Son usage est cependant limité par ses propriétés corrosives. Il demeure encore beaucoup de désaccords en ce qui concerne les procédures de stérilisation. Sur base de la littérature, on peut conclure que l'application d'une température allant de 121 à 132°C pendant 60 minutes ('déplacement de gravité') ou 134°C pendant plus de 18 minutes (pré-vide) soient efficaces (Rutala and Weber, 2001). D'autres cycles utilisant la vapeur d'eau tels que 132°C pendant 15 minutes ('déplacement de gravité') n'ont montrés qu'une efficacité partielle (Brown *et al.*, 1986). La méthode la meilleure et la plus sûre reste sans aucun doute l'incinération.

Le caractère infectieux des agents non conventionnels est préservé par séchage ou fixation à l'alcool, le formaldéhyde ou le glutaraldéhyde. Le matériel contaminé ne doit dès lors pas être exposé à des fixateurs et doit être maintenu humide jusqu'au moment de la décontamination (WHO, 1999).

Il est aussi conseillé, à condition que cela n'augmente pas le risque pour le personnel, que le matériel contaminé soit d'abord nettoyé, avant le commencement du processus de décontamination (WHO, 1999 ; Rutala and Weber, 2001). Cette étape préliminaire favorise la décontamination.

En ce qui concerne les procédures de décontamination et de gestion des déchets, les arrêtés régionaux (Arrêtés régionaux du 8/11/2001, du 4/07/2002 et du 6/02/2004) recommandent des procédures d'inactivation spécifiques pour les agents non conventionnels (prions) :

- Inactivation chimique par traitement avec de l'hypochlorite de sodium à 6° pendant une heure ou de l'hydroxyde de sodium 1M durant une heure. Cette méthode n'est cependant pas totalement efficace.
- Inactivation physique par autoclavage à 134°C minimum, pendant au moins 18 minutes. Cette méthode n'est pas non plus totalement efficace.

En dehors des méthodes d'inactivation proprement dites, les mesures de précaution suivantes doivent être également prises:

- Le matériel et les instruments doivent être bien nettoyés avant d'être inactivés.
- Le matériel contaminé avec de la BSE ne peut être inactivé (autoclave) en même temps (durant le même cycle d'autoclavage) que du matériel utilisé à d'autres fins.
- L'autoclave doit être régulièrement contrôlé et validé.
- Les surfaces de travail sont de préférence couvertes avec du matériel absorbant qui par la suite est éliminé par incinération; ce matériel absorbant est également utilisé pour éponger les liquides répandus de manière accidentelle.
- Pour l'élimination des déchets, des conteneurs étanches doivent être utilisés; deux sacs/récipients mis l'un dans l'autre peuvent par exemple être utilisés, tout en ayant soin d'éviter toute contamination du récipient extérieur. Les conteneurs sont marqués du pictogramme "Danger biologique" et fermés avant de quitter la zone confinée.
- Les déchets biologiques inactivés ou non ainsi que le matériel non recyclé doivent être dans tous les cas éliminés via une firme agréée pour l'élimination des déchets à incinérer.

5. Tris des déchets

Les déchets biologiques dangereux doivent faire l'objet d'un tri. Quand c'est possible ce tri doit se faire à la source.

Afin de réaliser un tri efficace, des lignes directrices claires doivent être disponibles par exemple, sous la forme par exemple de posters visibles pour le personnel. Des supports et des récipients suffisamment pratiques doivent être mis en place.

L'utilisation de récipients rigides qui peuvent être fermés hermétiquement est recommandée plus particulièrement pour les déchets liquides et "pâteux"; les boîtes en carton contenant un sac plastique jaune pour les déchets solides et des récipients spéciaux pour les objets tranchants, piquants et contondants (conteneurs à aiguilles). Si l'objet tranchant à éliminer est trop grand pour les conteneurs à aiguilles, celui-ci doit être emballé soigneusement avant élimination dans la filière des déchets dangereux. Les conteneurs à aiguilles sont pris en charge séparément et éliminés comme des déchets de soins de santé. Les conteneurs peuvent être introduits dans les boîtes cartonnées réglementaires ou dans les récipients rigides destinés aux déchets infectieux, de manière à ce que les aiguilles ne puissent éventuellement être récupérées par les toxicomanes (Conseil Supérieur d'hygiène, 2005). Les conteneurs adéquats doivent être utilisés à chaque occasion de manière à ce que le tri ne se déroule pas au dernier moment avant l'élimination des déchets ce qui peut engendrer un risque supplémentaire. Si une erreur de tri est constatée le personnel ne doit pas le retirer pour le déposer ailleurs.

Enfin, les conteneurs doivent être conformes aux législations nationales ou régionales en matière de code couleur, des matériaux dont ils sont constitués, ainsi que leur forme et leur taille. Ils sont équipés d'une fermeture appropriée et du sigle 'biohazard' (non requis pour le niveau de confinement L1) (norme EN 12740). Le marquage des enveloppes, emballages (perméables) qui sont utilisés doit être résistant au processus de décontamination (stérilisation à la vapeur d'eau).

6. Stockage

Les déchets doivent être inactivés avant leur élimination finale. Quand cela ne se produit pas dans les installations, des conteneurs fermés et robustes sont amenés dans une zone de stockage prévue à cet effet. Pour un transport par route, la réglementation ADR est d'application : 'European Agreement on the international Carriage of Dangerous Goods by Road' (ADR). Les conteneurs de déchets doivent être évacués du laboratoire dès qu'ils sont remplis aux 3/4 ou sinon de manière régulière.

Les conteneurs de déchets doivent être transportés vers le lieu de stockage par du personnel formé pour le transport interne. Le local de stockage des déchets est rendu inaccessible aux personnes non autorisées et aux animaux. Le local doit être frais et aéré, toutes les surfaces sont lavables et faciles à décontaminer. Le local doit être nettoyé et décontaminé efficacement après l'enlèvement des déchets stockés. Les moyens de transport des déchets doivent être faciles à nettoyer et à décontaminer.

La norme belge 12740 prévoit des conseils plus spécifiques en ce qui concerne le lieu de stockage des déchets provenant de niveau de confinement L1 et L2, avant leur évacuation par transport et leur destruction finale.

Selon la même norme, les déchets qui proviennent d'un laboratoire de niveau de confinement L3 peuvent exceptionnellement être stockés pour une courte période, si un autoclave n'est pas directement disponible. Pour le stockage de déchets provenant d'un niveau de confinement L2 ou supérieur, le lieu de stockage doit être indiqué par le sigle international 'biohazard'. Ces lieux doivent se situer dans une zone bien définie séparée de la zone de travail.

Si on n'utilise pas de locaux de stockage réfrigérés, l'OMS recommande de ne pas dépasser les durées de stockage suivantes (WHO 1999):

Climat tempéré: 72 heures en hiver
 48 heures en été

Climat chaud: 48 heures pendant la saison froide
 24 heures pendant la saison chaude

Le COGEM (Commissie Genetische Modificatie, Pays-Bas) a recommandé des délais de stockage dans ses lignes directrices relatives au stockage des déchets provenant de l'utilisation confinée d'OGM. Les déchets qui contiennent des cadavres peuvent être conservés une semaine au maximum, à une température maximale de 4°C ou à une température de -18°C pour une durée maximale de 2 mois (annexe 8d du règlement GGO).

Le stockage des déchets qui ne contiennent pas de cadavres, provenant de niveaux de confinement L1 et L2 est autorisé au maximum deux mois à une température maximale de 4°C, au plus deux semaines à une température maximale de 20°C, ou au maximum une semaine si la température du local de stockage peut dépasser les 20°C (annexe 8e du règlement GGO).

Selon le COGEM les 'dposables' provenant de niveaux de confinement L3 et L4 (pipettes, boîtes de pétri, gants, les restes de milieux de culture) peuvent être stockés, mais les autres déchets (L3 et L4) doivent être inactivés immédiatement. Les 'dposables' L3 peuvent être conservés au maximum deux semaines à 20°C au maximum, les 'dposables' L4 peuvent être conservés au maximum 3 jours à une température maximale de 20°C (point 2.2, avis du COGEM).

7. Méthodes de destruction finale

Il existe plusieurs possibilités d'élimination des déchets et des eaux usées, lorsque ceux-ci ne peuvent être recyclés ou réutilisés.

- L'incinération
- Mise en décharge
- Via l'égout

L'incinération peut être utilisée comme mode de traitement et d'élimination des déchets biologiques dangereux. Les déchets qui n'ont pas été préalablement inactivés doivent être incinérés sur place (dans le cas où l'exploitant est autorisé à le faire pour les déchets de soins de santé). En outre, le transport de ses déchets doit être en conformité avec la réglementation ADR.

Différents types de déchets ne peuvent faire l'objet d'une incinération tels que: les grandes quantités de réactifs chimiques, les plastiques halogénés (PVC), les déchets contenant de hautes concentrations en mercure ou en cadmium, les ampoules contenant des métaux lourds, les conteneurs à gaz sous pression, le matériel radiographique et photographique.

On doit être bien conscient que les incinérateurs produisent des rejets polluants pour l'environnement avec une série de matières telles que : les dioxines, les furanes, les métaux (plomb, mercure), particules, gaz acides (acide chlorhydrique, dioxyde de soufre) monoxyde de carbone et oxydes d'azote.

Ces émissions ont des conséquences nuisibles graves pour l'environnement de travail, la santé publique et l'environnement. De plus, les cendres résiduelles peuvent contenir des métaux lourds et parfois des dioxines. Depuis 2004, un traité international intitulé 'The elimination of persistent organic pollutants (POPs)' est paru. Donc, il est recommandé de développer des alternatives pour l'élimination des déchets.

La mise en décharge et l'élimination via l'égout peuvent être utilisées comme méthodes d'élimination des déchets si les déchets ont été préalablement inactivés⁶.

8. Méthodes de contrôle

Les déchets doivent être inactivés d'une manière appropriée et validée. On peut définir la validation comme étant l'ensemble des opérations nécessaires pour prouver qu'une méthode utilisée fournit des résultats fiables et exacts qui répondent à l'usage proposé⁷. Pour pouvoir déterminer cela, les paramètres du processus doivent être identifiés et les valeurs attendues fixées. Si la méthode de traitement des déchets choisie est décrite dans une norme nationale ou européenne il est obligatoire d'appliquer les procédures existantes. Une validation basée sur le 'worst case' doit être réalisée là où les déchets de différents niveaux de confinement sont inactivés (NBN EN 12740). En plus de la validation (annuelle ou davantage si spécifié par le fabricant) il est également recommandé de procéder à des tests de routine sur une base régulière.

Si à un certain moment les données observées lors des tests de routine ne sont plus équivalentes aux valeurs cibles de validation, il faut procéder à une nouvelle validation. Il faut procéder une fois par an à la validation, même si le résultat était correct. Cela peut aussi être nécessaire si par exemple le profil de chargement ou le type d'emballage sont modifiés.

Tous les rapports des contrôles sont conservés, les entretiens et les tests des prestations sont rassemblés dans un 'logbook' ou des documents comparables pour toutes les opérations de routine tels que les graphiques de température et les détails au sujet du chargement.

En plus des contrôles mécaniques (si d'application) il faut également placer un indicateur biologique ou chimique (si d'application) dans les déchets pour la validation, de manière à être en mesure de démontrer que les conditions de stérilisation/désinfections sont remplies. Les indicateurs chimiques sont utilisés en même temps que les indicateurs biologiques. Ils fournissent un résultat immédiat, jour après jour, bien qu'ils ne doivent pas être utilisés seuls.

Les résultats obtenus avec les indicateurs biologiques doivent être tenus à jour (registre).

8.1 Contrôle mécanique

Les stérilisateurs à la vapeur d'eau doivent faire l'objet d'une série de tests et de contrôles. La norme européenne EN 554 prévoit qu'au début de chaque journée de travail un test de pénétration de la vapeur d'eau soit réalisé. Le test de Bowie & Dick (Bowie & Dick pack-test) conforme à la

⁶ Ceci sans préjudice de mesures spécifiques supplémentaires qui pourraient être imposées au cas par cas dans le cadre d'une autorisation délivrée par une autorité compétente en application de la législation régionale relative aux déchets.

⁷ Ou bien encore, lorsqu'on détermine qu'un processus se déroule de manière efficace et reproductible.

norme EN 285 est utilisé pour le contrôle de la pénétration de la vapeur d'eau pour la stérilisation du lin qui est une des matières les plus difficiles à stériliser.

Test de Bowie & Dick : ce test est utilisé pour évaluer l'efficacité de la pompe à vide dans le stérilisateur (équipé d'un 'pré-vide'). En pratique, le test se déroule pendant la phase de formation du vide pour vérifier que suffisamment d'air a été évacué et ceci avant que la vapeur d'eau ne pénètre dans l'enceinte.

Le test peut également se dérouler dans l'enceinte pendant le processus de stérilisation pour détecter la présence d'éventuelles fuites. Les fabricants préconisent de réaliser ce test tous les jours. Pour vérifier que l'autoclave convient aussi pour stériliser des récipients, l'Helixtest est conseillé (norme EN 867-5), ce test est également recommandé dans la norme européenne pour les petits stérilisateurs à vapeur d'eau.

Helixtest: il est composé d'un long et fin serpentin dont une des extrémités peut recevoir une capsule contenant un indicateur chimique ou biologique. Les spécifications du test Helix sont précisées dans la norme européenne EN 867-5.

8.2 Indicateurs chimiques

Les indicateurs chimiques sont des indicateurs physico-chimiques pour le processus de stérilisation. Associés aux indicateurs biologiques et aux systèmes de contrôle mécaniques, ils permettent de mettre au point un programme efficace pour détecter une défaillance éventuelle du processus de stérilisation.

Les indicateurs chimiques (premier type) sont ceux qui changent de couleur ou de forme lorsqu'ils sont exposés à une température déterminée. Un exemple est le ruban adhésif pour autoclave. Ce type d'indicateur est principalement utilisé comme indicateur externe, il est posé à l'extérieur du matériel à inactiver. Ces indicateurs ne démontrent pas que le processus de stérilisation s'est bien déroulé. Ils sont appelés des 'process indicators'.

Un deuxième type d'indicateur chimique est l'indicateur intégré qui change progressivement de couleur ou de forme et réagit à une combinaison de temps et de température (systèmes à chaleur sèche) ou de temps, température et la présence de vapeur d'eau (stérilisateur à vapeur d'eau). Ces indicateurs sont souvent positionnés à l'intérieur des emballages pour être certain que tout le matériel soit exposés aux conditions de stérilisation.

Un autre type d'indicateur est 'l'air removal indicator' qui est utilisé dans le 'Bowie Dick Test Pack' par exemple. Il permet de contrôler l'élimination de l'air. Si l'air est éliminé de manière insuffisante, s'il y a une fuite, un changement de couleur incomplet de l'indicateur est observé.

Un avantage de ces indicateurs par rapport aux indicateurs biologiques est l'obtention immédiate d'un résultat. Bien que l'indicateur chimique ne puisse remplacer l'utilisation de l'indicateur biologique, il pourra toujours donner un résultat positif en cas de défaillance du système.

8.3 Indicateurs biologiques

Il existe plusieurs types d'indicateurs biologiques différents. Les indicateurs biologiques "self-contained" présentent l'avantage que le milieu de culture est déjà présent et qu'il n'y a pas de transfert de micro-organismes après le processus de stérilisation, ce qui est le cas lorsque des "carriers" sont inoculés dans l'emballage primaire.

Si l'on veut utiliser des indicateurs pendant le processus de validation, il faut également envisager le choix du type d'indicateur lors de contrôles de routine. Le nombre d'indicateurs biologiques qui doit être placé doit être déterminé et documenté (si des indicateurs différents sont utilisés pour la validation ils doivent tous être testés).

Pendant une méthode de validation, les indicateurs doivent être placés aux endroits les plus difficilement accessibles, pendant un contrôle de routine il est davantage recommandé de les placer là où ils seront effectivement utilisés. Si des conteneurs sont utilisés, les indicateurs doivent être

placés à l'intérieur de ceux-ci. Le contrôle à l'aide d'indicateurs biologiques devrait être réalisé à une certaine fréquence, le CDC (Center for Disease Control) conseille un usage hebdomadaire. A la fin du processus, les indicateurs doivent être récupérés et mis à incuber le plus vite possible. Le personnel qui est responsable du placement, des tests et de toutes les autres manipulations des indicateurs biologiques, doit recevoir une formation ad hoc.

Pour les stérilisateurs à la vapeur d'eau: Geobacillus stearothermophilus (NBN EN 866-3) (références: NCTC 1003, ATCC 7953, DSM 22 et CIP 5281) ou tout autre souche de micro-organisme qui répond aux mêmes exigences (EN 866-3). La troisième génération d'indicateurs permet une détection rapide (1 à 3 heures) de l'activité α -glucosidase d'une part et la détection de métabolites acides via un indicateur de pH d'autre part, ce qui permet une détermination endéans les 24 à 168 heures (Vesley *et al.*, 1995).

Pour les stérilisateurs à la chaleur sèche: Bacillus subtilis ou tout autre souche de micro-organisme qui répond aux exigences de la norme. Les références sont : *B. subtilis* CIP 77.18, NCIMB 8054, DSM 675 et ATCC 9372 sont les références (NBN EN 866-6).

Pour les stérilisateurs au formaldéhyde utilisant la vapeur à basse température : G. stearothermophilus ou tout autre souche de micro-organisme qui répond aux exigences de la norme. Les références sont: *G. stearothermophilus* NCIB 8224, DSM 6790 en ATCC 10149 (NBN EN 866-5).

Pour les stérilisateurs à oxyde d'éthylène: Bacillus subtilis var. niger ou tout autre souche de micro-organisme qui satisfait aux exigences de la norme. Les références sont: *B. subtilis* NCTC 10073, DSM 2277, ATCC 9372 of CIP 7718 (NBN EN 866-2). Il existe un nouvel indicateur biologique ('Readout EthylenOxyde'), ou la présence de *B. subtilis* est détectée via l'activité beta-glucosidase (fluorescence endéans les 4 heures). Ce système détecte également la présence de métabolites acides (mesure de pH) produits pendant la croissance des spores (Rutala *et al.*, 2001). Ce système de lecture rapide peut-être utilisé pour 100% d'oxyde d'éthylène, les mélanges oxyde d'éthylène-'chlorofluorocarbones' et oxyde d'éthylène-'hydrochlorofluorocarbones'. Ce système n'a pas été validé pour les mélanges oxyde d'éthylène-CO₂.

Pour les stérilisateurs à irradiation: Bacillus pumilus ou tout autre souche de micro-organisme qui répond aux exigences de la norme. Les références sont: *B. pumilus* CIP 3.83, DSM 361, CIP 77.25, DSM 492, ATCC 14884 en ATCC 27142 (NBN EN 866-4).

Pour évaluer l'effet bactéricide des désinfectants chimiques et des antiseptiques l'utilisation de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 et *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 est recommandée. Le produit testé doit montrer une réduction d'au moins 5 logarithmes décimaux en présence des organismes susmentionnés (NBN EN 1040).

Pour l'évaluation des propriétés fongicides des désinfectants chimiques et des antiseptiques la forme végétative de *Candida albicans* ATCC 10231 et les spores d'*Aspergillus niger* ATCC 16404 sont utilisées. Le produit testé doit permettre une réduction de 4 logarithmes décimaux sur les organismes de référence à tester (NBN EN 1275).

9. Glossaire

Suffixe "cide": indique la possibilité pour une substance chimique de tuer un micro-organisme

Suffixe "statique": indique la possibilité pour une substance chimique d'inhiber la multiplication d'un micro-organisme mais pas nécessairement de le tuer.

Algicide: une substance qui tue les algues.

Agent antimicrobien: tout agent qui tue les micro-organismes ou qui inhibe leur multiplication.

Antisepsie: la réduction d'une quantité donnée de (micro-) organismes vivants sur des tissus vivants, à l'aide d'un agent chimique, avec aussi le but de prévenir l'infection du tissu et/ou les tissus sous-jacents. L'antisepsie n'est pas durable.

Bactéricide: agent qui tue les bactéries

Bactériostatique: un agent, le plus souvent chimique, qui a la propriété d'inhiber la multiplication des bactéries mais pas nécessairement de les tuer.

Biocide: une substance qui tue tous les organismes, pathogènes ou non.

Décontamination: réduction, par désinfection ou stérilisation, d'une contamination biologique à un niveau ne présentant plus de risque.

Désinfection: inactivation irréversible de micro-organismes (bactéries végétatives et/ou champignons et/ou spores bactériens) sur des surfaces inertes ainsi que sur une peau intacte ou des muqueuses intactes. Tous les micro-organismes ne seront pas nécessairement inactivés. Les spores bactériennes survivent à la plupart des procédés de désinfection⁸.

Désinfectant: agent chimique (ou physique) qui, dans des conditions définies, peut inactiver irréversiblement des micro-organismes, mais pas nécessairement leurs spores.

Fongicide: une substance qui tue les champignons, moisissures.

Fongistatique: substance qui inhibe la multiplication des champignons, moisissures, mais qui ne les tue pas nécessairement.

Germicide: substance qui tue certains micro-organismes en particulier.

Inactivation: suppression de l'activité biologique des (micro-) organismes.

Micro-organisme: toute entité microbiologique, cellulaire ou non, capable de se reproduire et/ou de transférer du matériel génétique, y compris les virus, les viroïdes et les cultures de cellules animales et végétales;

Micro-organisme génétiquement modifié: un micro-organisme dont le matériel génétique a été modifié d'une manière qui ne se produit pas naturellement par multiplication et/ou par recombinaison naturelle.

⁸ Autre définition: La désinfection est une élimination dirigée de germes, destinée à empêcher la transmission de certains micro-organismes indésirables, en altérant leur structure ou leur métabolisme, indépendamment de leur état physiologique.

Organisme: toute entité biologique, y compris les micro-organismes, capable de se reproduire et/ou de transférer du matériel génétique

Ppm: parties par million par volume d'air (ml/m³)

Prion: Le terme prion est un mot, venant de l'anglais "proteinaceous infectious particle". Les prions jouent un rôle essentiel dans le bon (ou le mauvais) repliement des protéines, qui permettra de les rendre fonctionnelles ou non. En ce sens, le terme "infectieux" qui lui a été attribué à l'origine n'est pas à prendre au pied de la lettre. C'est le nom donné à l'agent infectieux de la maladie de Creutzfeldt-Jakob⁹.

Utilisation confinée: toute opération dans laquelle des organismes sont génétiquement modifiés ou dans laquelle des organismes génétiquement modifiés et/ou pathogènes sont cultivés, stockés, transportés, détruits, éliminés ou utilisés de toute autre manière, et pour laquelle des mesures de confinement spécifiques sont prises pour limiter le contact de ces organismes avec l'ensemble de la population et l'environnement ainsi que pour assurer à ces derniers un niveau élevé de sécurité.

Sporicide: agent qui tue toutes les spores microbiennes. Vu que les spores sont plus résistantes que les bactéries végétatives les agents sporicides peuvent convenir pour le comme agent de stérilisation.

Stérilisation: action de rendre stérile (absence de tout germe, bactérie ou virus, sous forme de spores ou sous forme végétative). La stérilisation n'est pas absolue. Elle consiste à obtenir une réduction de 6 logarithmes du nombre de germes (1.000.000 -> 1). En pratique, lors de la désinfection, on vise une réduction de 5 logarithmes.

Validation: Ensemble des opérations nécessaires pour prouver que la méthode utilisée fournit des résultats fiables et exacts qui répondent à l'usage proposé.

Valeur limite d'exposition : sauf indication contraire, la limite de la moyenne pondérée en fonction du temps, de la concentration d'un agent chimique dans l'air de la zone de respiration d'un travailleur aux cours d'une période de référence déterminée.

Virucide: agent qui inactive les virus.

⁹ Le prion est la version anormale d'une protéine (PrP) qui existe à la surface des cellules. Dans l'état anormal, le prion est capable "d'infecter" d'autres cellules en s'ancrant sur les protéines PrP normales, qui deviennent alors anormales. Ce mécanisme participerait à la destruction des cellules cibles, ici les neurones. Les prions sont très résistants aux procédés de décontamination courants.

10. Références

Littérature scientifique

Ackland NR, Hinton MR, Denmaede KR. **Controlled formaldehyde fumigation system.** Appl Environ Microbiol, 1980; 39(3): 480-487.

Adair FW, Geftic SG, Gelzer J. **Resistance of *Pseudomonas* to quaternary ammonium compounds.** Appl Microbiol, 1971; 21(6): 1058-1063.

Best M, Sattar SA, Springthorpe VS, Kennedy ME. **Efficacies of selected disinfectants against *Mycobacterium tuberculosis*.** J Clin Microbiol, 1990; 28(10): 2234-2239.

Blair A, Saracci R, Stewart PA, Hayes RB, Shy C. **Epidemiological evidence on the relationship between formaldehyde exposure and cancer.** Scand J Work Environ Health, 1990; 16(6): 381-93.

Block SS. **Peroxygen compounds.** In Block SS (ed.), Disinfection, sterilization and preservation, 5th ed. Williams & Wilkins, Philadelphia, PA, 2001: 185-204.

Bock FG, Myers HK, Fox HW. **Cocarcinogenic activity of peroxy compounds.** J Natl Cancer Inst, 1975; 55(6): 1359-61.

Borick PM, Dondershine FH, Chandler VL. **Alkalinized glutaraldehyde, a new antimicrobial agent.** J Pharm Sci, 1964; 53: 1273-5.

Broder BC, Simon J. **Understanding ozone.** Mater Manag Health Care, 2004; 13(9): 38-40.

Brown P, Rohwer RG, Gadjusek DC. **Newer data on the inactivation of scrapie virus or creutzfeldt-jacob disease virus in brain tissue.** J Infect Dis, 1986; 153(6): 1145-8.

Cole EC, Rutala WA, Nessen L, Wannamaker NS, Weber DJ. **Effect of methodology, dilution, and exposure time on the tuberculocidal activity of glutaraldehyde-based disinfectants.** Appl Environ Microbiol, 1990; 56(6): 1813-7.

Coulthard CE, Skyes G. **Germicidal effect of alcohol.** Pharm J, 1936; 137: 79-81.

Crumbly L. **BioConverter System Safely treats infectious medical waste.** Virginia Tech Spectrum, 1995.

Emmanuel J, Hrdinka C, Gluszynski P, Ryder R, McKeon M, Berkemaier R, Gauthier A. **Non-incineration medical waste treatment technologies in Europe.** Health Care Without Harm Europe, June 2004.

Ernst DR, Race RE. **Comparative analysis of scrapie agent inactivation methods.** J Virol Methods, 1993; 41(2): 193-201.

Gamble MR. **Hazard: formaldehyde and hypochlorites.** Lab Anim, 1977; 11(1):61.

Garner JS, Favero MS. **CDC Guidelines for handwashing and hospital environmental control.** Infect Control 1986; 7(4): 231-43.

Gottardi W. **Iodine and iodine compounds.** In S. S. Block (ed.), Disinfection, sterilization, and preservation, 5th ed. Williams & Wilkins, Philadelphia, PA, 2001: 159-84.

Gregory AW, Schaaltje B, Smart JD, Robinson RA. **The mycobactericidal efficacy of ortho-phthalaldehyde and the comparative resistances of *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium terrae*, and *Mycobacterium chelonae*.** Infect Control Hosp Epidemiol, 1999; 20(5): 324-30.

- Hadar J, Tirosh T, Grafstein O, Korabelnikov E. **Autoclave emissions-Hazardous or not.** Am Biol Ass, 1997; 2(3): 44-51.
- Hueck HJ, Adema DM, Wiegmann JR. **Bacteriostatic, fungistatic and algistatic activity of fatty nitrogen compounds.** Appl Microbiol, 1966; 14(3): 308-319.
- Jeng DK, Woodworth AG. **Chlorine dioxide gas sterilization under square-wave conditions.** Appl Environ Microbiol, 1990; 56(2): 514-519.
- Johnston MD, Lawson S, Otter JA. **Evaluation of hydrogen peroxide vapour as a method for the decontamination of surfaces contaminated with *Clostridium botulinum* spores.** Microbiol Methods, 2005; 60(3): 403-411.
- Kahnert A, Seiler P, Stein M, Aze B, McDonnell G, Kaufmann SH. **Decontamination with vaporized hydrogen peroxide is effective against *Mycobacterium tuberculosis*.** Lett Appl Microbiol, 2005; 40(6): 448-452.
- Kanemitsu K, Kunishima H, Imasaka T, Ishikawa S, Harigae H, Yamato S, Hirayama Y, Kaku M. **Evaluation of a low-temperature steam and formaldehyde sterilizer.** J Hosp Infect, 2003; 55(1): 47-52.
- Kanemitsu K, Kunishima H, Saga T, Harigae H, Imasaka T, Hirayama Y, Kaku M. **Residual formaldehyde on plastic materials and medical equipment following low-temperature steam and formaldehyde sterilization.** J Hosp Infect, 2005; 59(4): 361-364.
- Klein M, DeForest A. **Antiviral action of germicides.** Soap. Sanit, 1963; 39: 70.
- Klein M, DeForest A. **Principles of viral inactivation.** In Block SS (ed.), Disinfection, sterilization and preservation, 3rd ed. Lea & Febiger, Philadelphia, London, 1983:422-434.
- Kline LB, Hull RN. **The virucidal properties of peracetic acid.** Am J Clin Path, 1960; 33: 30-33.
- Lensing HH, Oei HL. **Investigations on the sporocidal and fungicidal activity of desinfectans.** Zentrabl Bakteriell Mikrobiol Hyg, 1985; B181: 487-95.
- Luftman HS. **Neutralization of formaldehyde gas by ammonium bicarbonate and ammonium carbonate.** Appl Biosafety, 2005; 10(2): 101-106.
- Manuelidis L. **Decontamination of Creutzfeldt-Jacob disease and other transmissible agents.** J Neurovirol, 1997; 3(1): 62-5.
- Mariscal A, Carnero-Varo M, Gomez E, Fernandez-Crehuet J. **A fluorescence bioassay to detect residual formaldehyde from clinical materials sterilized with low-temperature steam and formaldehyde.** Biologicals, 2005; 33(3): 191-196.
- McDonnell G, Russell AD. **Antiseptics and disinfectants: Activity, action and resistance.** Clin Microbiol Rev, 1999; 12(1): 147-179.
- Mentel R, Schmidt J. **Investigations on rhinovirus inactivation by hydrogen peroxide.** Acta Virol, 1973; 17(4): 351-354.
- Moisan M, Barbeau J, Moreau S, Pelletier J, Tabrizian M, Yahia LH. **Low-temperature sterilization using gas plasmas: a review of the experiments and an analysis of the inactivation mechanisms,** Int Pharm, 2001; 226(1-2): 1-21.
- Nystrom B. **New technology for sterilization and disinfection.** Am J Med, 1991; 91(3B): 264S-266S.
- Partanen T, Kauppinen T, Hernberg S, Nickels J, Luukkonen R, Hakulinen T, Pukkala E. **Formaldehyde exposure and respiratory cancer among woodworkers-an update.** Scand J Work Environ Health, 1990; 16(6): 394-400.

- Power EG, **Aldehydes as biocides**. Prog Med Chem, 1995; 34: 149-201.
- Prince HN, Prince DL, Prince RN. **Principles of viral control and transmission**. In Block SS (ed.), Desinfection, sterilization and preservation, 4th ed. Lea & Febiger, Philadelphia, Pa, 1991: 411-44.
- Ratner BD, Chilkoti A, Lopez GP. **Plasma deposition and treatment for biomedical applications**. In d'Agostino (ed.), **Plasma deposition, treatment and etching of polymers**. Academic Press, San Diego, CA, 1990: 463-516.
- Reinhardt PA, Gordon JG. **Infectious and medical waste management**. Lewis Publishers Inc., Chelsea, MI, 1991.
- Resnick L, Veren K, Salahuddin SZ, Tondreau S, Markham PD. **Stability and inactivation of HTLV-III/LAV under clinical and laboratory environments**. JAMA, 1986; 255 (14): 390-401.
- Rickloff JR. **An evaluation of the sporicidal activity of ozone**. Appl Environ Microbiol, 1987; 53(4): 683-686.
- Rubbo SD, Gardner JF, Webb RL. **Biocidal activities of glutaraldehyde and related compounds**. J Appl Bacteriol, 1967; 30(1): 78-87.
- Russell AD, Hopwood D. **The biological uses and importance of glutaraldehyde**. Prog Med Chem, 1976; 13:271-301.
- Russell AD. **Bacterial spores and chemical sporicidal agents**. Clin Microbiol Rev, 1990; 3(2): 99-119.
- Russell AD. **Activity of biocides against mycobacteria**. Soc Appl Bacteriol Symp Ser, 1996; 25: 87S-101S.
- Rutala WA, Cole EC, Wannamaker NS, Weber DJ. **Inactivation of *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium bovis* by 14 hospital disinfectants**. Am J Med, 1991; 91(3B): 267S-71S.
- Rutala WA. **APIC guidelines for selection and use of disinfectants**. Am J Infect Control, 1996; 24: 313-342.
- Rutala WA, Gergen MF, Weber DJ. **Inactivation of *Clostridium difficile* spores by disinfectants**. Infect Control Hosp Epidemiol, 1993; 14: 713-8.
- Rutala WA, Gergen MF, Weber DJ. **Evaluation of a new surface germicide (Surfacine™) with antimicrobial persistence**. Infect Control Hosp Epidemiol, 2000; 21: 103.
- Rutala WA., Weber DJ. **New disinfection and sterilization methods**. Emerg Infect Dis, 2001; 7(2): 348-353.
- Rutala WA, Weber DJ. **Creutzfeldt-jacob disease: recommendations for disinfection and sterilization**. Clin Infect Dis, 2001; 32(9): 1348-1356.
- Sattar SA, Sprinthorpe VS. **Survival and disinfectant inactivation of the human immunodeficient virus: a critical review**. Rev Infect Dis, 1991; 13(3): 430-447.
- Scott EM, Gorman SP. **Glutaraldehyde**. In: Block SS (ed.), Desinfection, sterilization and preservation. 4th ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1991 :257-62.
- Shetty N, Srinivasan S, Holton J, Ridgway GL. **Evaluation of microbicidal activity of a new disinfectant: Sterilox 2500 against *Clostridium difficile* spores, *Helicobacter pylori*, vancomycin resistant *Enterococcus* species, *Candida albicans* and several *Mycobacterium* species**. J Hops Infect, 1999; 41(2): 101-105.
- Sterling TD, Weinkam JJ. **Mortality from respiratory cancers (including lung cancer) among workers employed in formaldehyde industries**. Am J Ind Med, 1994; 25(4): 593-602.

Sy KY, Murray MB, Harrison MD, Beuchat LR. **Evaluation of gaseous chlorine dioxide as a sanitizer for killing *Salmonella*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and yeast and molds on fresh and fresh-cut procedure.** J Food Prot, 2005; 68(6):1176-87.

Tanaka H, Hirakata Y, Kaku M, Yoshida R, Takemura H, Mizukane R, et al. **Antimicrobial activity of superoxidized water.** J Hosp Infect, 1996; 34(1): 43-9.

Toledo RT, Escher FE, Ayers JC. **Sporicidal properties of hydrogen peroxide against food spoilage organisms.** Appl Microbiol, 1973; 26(4): 592-597.

Vesley D, Nellis MA, Allwood PB. **Evaluation of a rapid readout biological indicator for 121 degrees C gravity and 132 degrees C vacuum-assisted steam sterilization cycles.** Infect Control Hosp Epidemiol. 1995 May;16(5):281-6.

Walsh SE, Maillard JY, Russel AD. **Ortho-phtalaldehyde: a possible alternative to glutaraldehyde for high level disinfection.** J Appl Microbiol, 1999; 86(6): 1039-46.

Wardle MD, Renninger GM. **Biocidal effect of hydrogen peroxide in spacecraft bacterial isolates.** Appl Microbiol, 1975; 30(4): 710-711.

Williams JE. **Formalin destruction of salmonellae in poultry litter.** Poult Sci, 1980; 59(12): 2717-2724.

Wilson R. **Evaluation of the Plazlyte sterilisation system at the Richmond hospital, Richmond, B.C.** J Healthc Mater Manage, 1994; 12(4): 37-40.

Normes

NBN EN 285. **Stérilisation – Stérilisateurs à la vapeur d'eau – Grand stérilisateurs.** 27 décembre 1996

NBN EN 554. **Stérilisation de dispositifs médicaux - Validation et contrôle de routine pour la stérilisation à la vapeur d'eau.** 20 janvier 1995

NBN EN 866-2. **Systèmes biologiques pour l'essai des stérilisateurs et les procédés de stérilisation - Partie 2: Systèmes particuliers destinés à être utilisés dans des stérilisateurs à l'oxyde d'éthylène.** 4 avril 1997.

NBN EN 866-3. **Systèmes biologiques pour l'essai des stérilisateurs et les procédés de stérilisation - Partie 3: Systèmes particuliers destinés à être utilisés dans des stérilisateurs à la chaleur humide.** 4 avril 1997.

NBN EN 866-4. **Systèmes biologiques pour l'essai des stérilisateurs et les procédés de stérilisation - Partie 4: Systèmes particuliers destinés à être utilisés dans des stérilisateurs à irradiation.** 29 février 2000.

NBN EN 866-5. **Systèmes biologiques pour l'essai des stérilisateurs et les procédés de stérilisation - Partie 5: Systèmes particuliers destinés à être utilisés dans des stérilisateurs à la vapeur d'eau et au formaldéhyde à basse température.** 29 février 2000.

NBN EN 866-6. **Systèmes biologiques pour l'essai des stérilisateurs et les procédés de stérilisation - Partie 6: Systèmes particuliers destinés à être utilisés dans des stérilisateurs à chaleur sèche.** 29 février 2000.

NBN EN 867-5. **Systèmes non biologiques destinés à être utilisés dans des stérilisateurs - Partie 5 : Spécifications des systèmes indicateurs et dispositifs d'épreuve de procédé destinés à être utilisés pour les essais de performance relatifs aux petits stérilisateurs de Type B et de Type S.** 30 janvier 2001

NBN EN 1040. **Désinfectants et antiseptiques chimiques - Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité de base bactéricide antiseptiques et des désinfectants chimiques - Méthode d'essai et prescriptions (phase 1).** 4 avril 1997.

NBN EN 1275. **Antiseptiques et désinfectants chimiques - Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité fongicide ou levuricide de base des antiseptiques et des désinfectants chimiques - Méthode d'essai et prescriptions (phase 1).** 9 mai 1997.

NBN EN 12740. **Biotechnologie - Laboratoires de recherche, développement et analyse - Guide pour la manipulation, l'inactivation et le contrôle des déchets.** 29 septembre 1999.

NBN EN 13311-5. **Biotechnologie - Critères de performances des récipients - Partie 5: Cuves de décontamination.** 20 mai 2001.

NBN EN 14180. **Stérilisateurs à usage médical - Stérilisateurs à la vapeur et au formaldéhyde à basse température - Exigences et essais.** 22 juillet 2003.

Législation - Recommandations

Arrêté du 8 novembre 2001 de la Région de Bruxelles-Capitale relatif à l'utilisation confinée des organismes génétiquement modifiés et/ou pathogènes et au classement des installations concernées. MB 26.02.2002, p. 7209

Arrêté du Gouvernement wallon du 4 juillet 2002 déterminant les conditions sectorielles relatives aux utilisations confinées d'organismes génétiquement modifiés ou pathogènes. MB 21.09.2002, p. 41711.

Arrêté Royal du 20 juillet 2001 relatif au règlement général sur la protection de la population, des travailleurs et de l'environnement contre le danger des radiations ionisantes, MB du 30 août 2001, p28906

Arrêté Royal du 11 octobre 2002 modifiant l'AR du 11 mars 2002 relatif à la protection de la santé et de la sécurité des travailleurs contre le risque des agents chimiques au travail, MB du 25 octobre 2002, p. 49062

Arrêté Royal du 9 novembre 2003 modifiant l'AR du 2 décembre 1993 relatif à la protection des travailleurs contre les risques d'exposition aux agents cancérigènes et mutagènes au travail et modifiant l'art. 148decies, 1, §1, du Règlement général pour la protection des travailleurs, MB du 8 août 2001, p. 589.

Besluit van de Vlaamse Regering van 6 februari 2004 tot wijziging van het besluit van de Vlaamse Regering van 6 februari 1991 houdende vaststelling van het Vlaamse reglement betreffende de milieuvergunning, en van het besluit van de Vlaamse Regering van 1 juni 1995 houdende algemene en sectorale bepalingen inzake milieuhygiëne. BS 01.04.2004, p. 18281

COGEM advies CGM/050831-01. **Richtlijnen voor de opslag van afval afkomstig van GGO werkzaamheden**, 31/08/2005.

Décision de la Commission 93/3/CE du 20 décembre 1993 relative à la définition d'une liste de déchets selon l'article 1, sous a), de la Directive du Conseil 75/442/CEE relatives aux déchets, JO. L. 1994, n° 5. Modifiée depuis janvier 2002 par la Décision 2000/532/CEE de la Commission du 3 mai 2000 en remplacement de la Décision 94/3/CE relative à la définition d'une liste de déchets selon l'article 1, sous a), Directive du Conseil 75/442/CEE relative aux déchets et la Décision,94/904/CE pour la définition d'une liste de déchets dangereux selon l'article 1, § 4, de la Directive du Conseil 91/698/CEE relative aux déchets dangereux, JO L. 2000, n°. 226, modifiée par la Décision 2001/573/CE, JO. L. 2001, n°. 203.

Décret du 2 juillet 1981 relatif à la prévention et la gestion des déchets, modifié par le Décret du 2 avril 2004, MB du 18 mai 2004, p. 39289

Décret du 27 juin 1996 relatif aux déchets, modifié par le Décret du 16 octobre 2003, MB du 23 octobre 2003, p. 51646

Directive du Conseil 91/156/CEE du 18 mars 1991 modifiant la Directive 75/442/CEE relative aux déchets, JO L. 1991, n° 78, modifiée à nouveau par la Directive 91/692/CEE et la Décision 96/350/CE

Directive du Conseil 91/689/CEE du 12 décembre 1991 relative aux déchets dangereux, JO L. 1991, n° 377, modifiée par la Directive 34/31/CE du 27 juin 1994, JO L. 1994, n° 394; Décision du Conseil 94/904/CE, JO L. 1994, n° 356. Depuis le 1 janvier 2002 la liste a été modifiée par la liste de la Décision 2000/573/CE, JO L. 2001, n° 203

ECETOC, **Peracetic acid (GAS. NO. 79.21.0) and its equilibrium solutions**. JACC 40. European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals (ECOTOC), 2001. Brussels, Belgium.

Ordonnance du 7 mars 1991, dernière modification par l'Ordonnance du 19 février 2004, MB 13 mai 2005, p. 22905

Recommandations en matière de gestion des déchets de soins de santé. Conseil Supérieur d'Hygiène, SPF Santé Publique, Sécurité de la chaîne alimentaire et Environnement, mars 2005. HGR n° 5109. http://www.health.fgov.be/CSH_HGR

Transport des substances dangereuses par la route - ADR, MB 13 décembre 2004, p. 81776

Werkgroep infectiepreventie. **Beleid reiniging, desinfectie en sterilisatie**. Nederland, juillet 2004.

WHO Infection Control Guidelines for Transmissible Spongiform Encephalopathies. World Health Organization, Geneva, Switzerland, 23–26 March 1999. WHO/CDS/CSR/APH/2000.3

WHO Safe Management of Wastes from Health-Care Activities. WHO Geneva 1999