MINISTÈRE
DE L'AGRICULTURE
ET DE LA SOUVERAINETÉ
ALIMENTAIRE
Liberté
Égalité
Fraternité

Ordre de méthode

Direction générale de l'alimentation **Sous-direction du pilotage des ressources et des services** **Bureau des laboratoires** **251 rue de Vaugirard** **75 732 PARIS CEDEX 15** **0149554955** **Direction générale de l'alimentation** **Sous-direction de la santé et du bien-être animal** **Bureau de la santé animale**	**Instruction technique** **DGAL/SDPRS/2022-655** **31/08/2022**

Date de mise en application : Immédiate
Diffusion : Tout public

Cette instruction n'abroge aucune instruction.
Cette instruction ne modifie aucune instruction.
Nombre d'annexes : 0

Objet : Cette instruction technique a vocation à remplacer le programme 167 (analyses de dépistage par tests rapides des encéphalopathies spongiformes transmissibles).

Destinataires d'exécution
DRAAF DAAF DDETSPP ADILVA LNR ANSES - Laboratoire de Lyon

Résumé : Cette instruction technique fixe les exigences auxquelles doivent répondre de façon permanente les laboratoires pour maintenir leur agrément pour la recherche des encéphalites spongiformes transmissibles (EST), en accord avec les règlements CE/999/2001 et (UE) n°2017/625. Elle précise également les procédures permettant la réaffectation des locaux lors de cessation de cette activité ainsi que de demande de co-activité dans les locaux dédiées aux analyses EST.

Textes de référence :"Règlement (CE) n° 999/2001 du Parlement européen et du Conseil du 22 mai 2001 fixant les règles pour la prévention, le contrôle et l'éradication de certaines encéphalopathies spongiformes transmissibles ;
Règlement (UE) n°2017/625 du Parlement européen et du Conseil du 15 mars 2017 concernant les contrôles officiels et les autres activités officielles servant à assurer le respect de la législation alimentaire et de la législation relative aux aliments pour animaux ainsi que des règles relatives à la santé et au bien-être des animaux, à la santé des végétaux et aux produits phytopharmaceutiques, modifiant les règlements du Parlement européen et du Conseil (CE) n° 999/2001, (CE) n° 396/2005, (CE) n° 1069/2009, (CE) n° 1107/2009, (UE) n° 1151/2012, (UE) n° 652/2014, (UE) 2016/429 et (UE) 2016/2031, les règlements du Conseil (CE) n° 1/2005 et (CE) n° 1099/2009 ainsi que les directives du Conseil 98/58/CE, 1999/74/CE, 2007/43/CE, 2008/119/CE et 2008/120/CE, et abrogeant les règlements du Parlement européen et du Conseil (CE) n° 854/2004 et (CE) n° 882/2004, les directives du Conseil 89/608/CEE, 89/662/CEE, 90/425/CEE, 91/496/CEE, 96/23/CE, 96/93/CE et 97/78/CE ainsi que la décision 92/438/CEE du Conseil (règlement sur les contrôles officiels) ;
Articles L.202-1, R.200-1, R.202-8 et suivants du code rural et de la pêche maritime ;
Arrêté du 18 juillet 1994 fixant la liste des agents biologiques pathogènes ;
Arrêté du 16 juillet 2007 fixant les mesures techniques de prévention, notamment de confinement, à mettre en œuvre dans les laboratoires de recherche, d'enseignement, d'analyses, d'anatomie et cytologie pathologiques, les salles d'autopsie et les établissements industriels et agricoles où les travailleurs sont susceptibles d'être exposés à des agents biologiques pathogènes ;
Arrêté du 19 décembre 2007 fixant les conditions générales d'agrément des laboratoires d'analyses dans le domaine de la santé publique vétérinaire et de la protection des végétaux ;
Arrêté du 29 mai 2009 relatif aux transports de marchandises dangereuses par voies terrestres ;
Arrêté du 29 décembre 2009 désignant les laboratoires nationaux de référence dans le domaine de la santé publique vétérinaire et phytosanitaire ;
Circulaire DGS/DPPR n°2000/292 du 29 mai 2000 relative à diverses mesures concernant les appareils de désinfection des déchets d'activités de soins à risques infectieux et assimilés.
Circulaire N°DGS/5C/DHOS/E2/2001/138 du 14 mars 2001 relative aux précautions à observer lors de soins en vue de réduire les risques de transmission d'agents transmissibles non conventionnels
Circulaire N°DGS/SD5C/DHOS/E2/DRT/CT1/CT2/2004/382 du 30 juillet 2004 relative aux précautions à observer dans les services d'anatomie et cytologie pathologiques, les salles d'autopsie, les chambres mortuaires et les laboratoires de biologie « spécialisés ATNC », vis à vis du risque de transmission des agents transmissibles conventionnels (ATC) et non conventionnels (ATNC) ;
Note de service DGAL/SDSPA/N2002-8083 du 04 juin 2002 relative aux modalités de mise en œuvre des analyses de laboratoire dans le cadre des tests rapides de dépistage de l'ESB sur les bovins suspects cliniques ;
Note de service DGAL/SDSPA/N2002-8116 du 06 août 2002 relative aux modalités de mise en œuvre des analyses de laboratoire dans le cadre des tests cliniques rapides de dépistage de la tremblante sur les petits ruminants suspects cliniques ;
Note de service de la DGAL/SDSPA/N2003-8101 du 30 mai 2003 relative aux modalités de mise en œuvre des analyses de laboratoire dans le cadre des tests rapides de dépistage de la tremblante sur les petits ruminants suspects cliniques ;
Instruction N°DGS/RI3/2011/449 du 1er décembre 2011 relative à l'actualisation des recommandations visant à réduire les risques de transmission d'agents transmissibles non conventionnels lors des actes invasifs ;
Rapport du Haut comité de la Santé Publique sur les encéphalopathies subaiguës spongiformes transmissibles humaines et animales. Octobre 1996.
Santé Canada. La maladie de Creutzfeldt-Jakob classique au Canada. Guide de prévention des infections. RMTC 2002 ; 28S5 : I-93 ;
Conseil Supérieur d'Hygiène. Recommandation pour la prévention de la transmission des

encéphalopathies spongiformes transmissibles (maladie de Creutzfeldt-Jakob) en milieu hospitalier, 2006, n°7276-2 ;
Avis de l’Agence nationale de sécurité sanitaire de l’alimentation, de l’environnement et du travail relatif à la demande d'avis concernant la cohabitation d'analyses de recherche d'agents biologiques de classe 3 et d'ESB dans les mêmes locaux (Saisine Anses n° 2010-SA-0157) ;
Guide de bonnes pratiques de prévention pour les travaux de recherche sur les prions, rédigé par les établissements d’INRAE, du CEA, de l’INSERM, de l’ANSES et du CNRS. Février 2022.
Novel methods for disinfection of prion-contaminated medical devices - Guillaume Fichet, Emmanuel Comoy, Christelle Duval, Kathleen Antloga, Capucine Dehen, Aurore Charbonnier, Gerald McDonnell, Paul Brown, Corinne Ida Lasmézas, Jean-Philippe Deslys - Lancet 2004; Aug 7-13 ; 364: 521–6."

Dispositions applicables au réseau

DES LABORATOIRES POUR LA MISE EN OEUVRE DE TESTS RAPIDES DE DEPISTAGE DES ENCÉPHALOPATHIES SPONGIFORMES TRANSMISSIBLES

Textes de référence :

- Règlement (CE) n° 999/2001 du Parlement européen et du Conseil du 22 mai 2001 fixant les règles pour la prévention, le contrôle et l'éradication de certaines encéphalopathies spongiformes transmissibles ;
- Règlement (UE) n°2017/625 du Parlement européen et du Conseil du 15 mars 2017 concernant les contrôles officiels et les autres activités officielles servant à assurer le respect de la législation alimentaire et de la législation relative aux aliments pour animaux ainsi que des règles relatives à la santé et au bien-être des animaux, à la santé des végétaux et aux produits phytopharmaceutiques, modifiant les règlements du Parlement européen et du Conseil (CE) n° 999/2001, (CE) n° 396/2005, (CE) n° 1069/2009, (CE) n° 1107/2009, (UE) n° 1151/2012, (UE) n° 652/2014, (UE) 2016/429 et (UE) 2016/2031, les règlements du Conseil (CE) n° 1/2005 et (CE) n° 1099/2009 ainsi que les directives du Conseil 98/58/CE, 1999/74/CE, 2007/43/CE, 2008/119/CE et 2008/120/CE, et abrogeant les règlements du Parlement européen et du Conseil (CE) n° 854/2004 et (CE) n° 882/2004, les directives du Conseil 89/608/CEE, 89/662/CEE, 90/425/CEE, 91/496/CEE, 96/23/CE, 96/93/CE et 97/78/CE ainsi que la décision 92/438/CEE du Conseil (règlement sur les contrôles officiels) ;
- Articles L.202-1, R.200-1, R.202-8 et suivants du code rural et de la pêche maritime ;
- Arrêté du 18 juillet 1994 fixant la liste des agents biologiques pathogènes ;
- Arrêté du 16 juillet 2007 fixant les mesures techniques de prévention, notamment de confinement, à mettre en œuvre dans les laboratoires de recherche, d'enseignement, d'analyses, d'anatomie et cytologie pathologiques, les salles d'autopsie et les établissements industriels et agricoles où les travailleurs sont susceptibles d'être exposés à des agents biologiques pathogènes ;
- Arrêté du 19 décembre 2007 fixant les conditions générales d'agrément des laboratoires d'analyses dans le domaine de la santé publique vétérinaire et de la protection des végétaux ;
- Arrêté du 29 mai 2009 relatif aux transports de marchandises dangereuses par voies terrestres ;
- Arrêté du 29 décembre 2009 désignant les laboratoires nationaux de référence dans le domaine de la santé publique vétérinaire et phytosanitaire ;
- Circulaire DGS/DPPR n°2000/292 du 29 mai 2000 relative à diverses mesures concernant les appareils de désinfection des déchets d'activités de soins à risques infectieux et assimilés.
- Circulaire N°DGS/5C/DHOS/E2/2001/138 du 14 mars 2001 relative aux précautions à observer lors de soins en vue de réduire les risques de transmission d'agents transmissibles non conventionnels
- Circulaire N°DGS/SD5C/DHOS/E2/DRT/CT1/CT2/2004/382 du 30 juillet 2004 relative aux précautions à observer dans les services d'anatomie et cytologie pathologiques, les salles d'autopsie, les chambres mortuaires et les laboratoires de biologie « spécialisés ATNC », vis à vis du risque de transmission des agents transmissibles conventionnels (ATC) et non conventionnels (ATNC) ;
- Note de service DGAL/SDSPA/N2002-8083 du 04 juin 2002 relative aux modalités de mise en œuvre des analyses de laboratoire dans le cadre des tests rapides de dépistage de l'ESB sur les bovins suspects cliniques ;
- Note de service DGAL/SDSPA/N2002-8116 du 06 août 2002 relative aux modalités de mise en œuvre des analyses de laboratoire dans le cadre des tests cliniques rapides de dépistage de la tremblante sur les petits ruminants suspects cliniques ;
- Note de service de la DGAL/SDSPA/N2003-8101 du 30 mai 2003 relative aux modalités de mise en œuvre des analyses de laboratoire dans le cadre des tests rapides de dépistage de la tremblante sur les petits ruminants suspects cliniques ;
- Instruction N°DGS/RI3/2011/449 du 1er décembre 2011 relative à l'actualisation des recommandations visant à réduire les risques de transmission d'agents transmissibles non conventionnels lors des actes invasifs ;
- Rapport du Haut comité de la Santé Publique sur les encéphalopathies subaiguës spongiformes transmissibles humaines et animales. Octobre 1996.
- Santé Canada. La maladie de Creutzfeldt-Jakob classique au Canada. Guide de prévention des infections. RMTC 2002 ; 28S5 : I-93 ;
- Conseil Supérieur d'Hygiène. Recommandation pour la prévention de la transmission des encéphalopathies spongiformes transmissibles (maladie de Creutzfeldt-Jakob) en milieu hospitalier, 2006, n°7276-2 ;
- Avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à la demande d'avis concernant la cohabitation d'analyses de recherche d'agents biologiques de classe 3 et d'ESB dans les mêmes locaux (Saisine Anses n° 2010-SA-0157) ;
- Guide de bonnes pratiques de prévention pour les travaux de recherche sur les prions, rédigé par les établissements d'INRAE, du CEA, de l'INSERM, de l'ANSES et du CNRS. Février 2022.
- Novel methods for disinfection of prion-contaminated medical devices - *Guillaume Fichet, Emmanuel Comoy, Christelle Duval, Kathleen Antloga, Capucine Dehen, Aurore Charbonnier, Gerald McDonnell, Paul Brown, Corinne Ida Lasmézas, Jean-Philippe Deslys* - Lancet 2004; Aug 7-13 ; 364: 521–6.

CHAMP D'APPLICATION

La mise en œuvre sur le territoire national de tests rapides de dépistage des Encéphalopathies Spongiformes Transmissibles (EST) par un laboratoire nécessite la possession d'un agrément délivré par le Ministère chargé de l'agriculture pour cette activité. Cet agrément est conditionné au respect des exigences d'hygiène et de sécurité du présent document et de la réglementation en vigueur, à la participation aux essais interlaboratoire d'aptitude (EILA) organisés par le Laboratoire national de référence pour les encéphalopathies spongiformes transmissibles (LNR EST[1]) et à l'accréditation des laboratoires par le Cofrac pour ces essais.

La liste des laboratoires agréés pour la mise en œuvre des tests rapides de dépistage des EST est tenue à jour par le Ministère chargé de l'agriculture (https://agriculture.gouv.fr/laboratoires-agrees-et-methodes-officielles-en-sante-animale).

Le présent document fixe la liste des exigences auxquelles doivent répondre de façon permanente les laboratoires pour maintenir leur agrément.

Ces exigences peuvent être modifiées à tout moment par le Ministère chargé de l'agriculture du fait notamment d'évolutions réglementaires nationales ou internationales, ou de la publication de nouvelles données scientifiques.

EXIGENCES

Les Agents Transmissibles Non Conventionnels (ATNC) appartiennent au groupe 3 des agents biologiques pathogènes tel que défini dans l'arrêté du 18 juillet 1994 modifié fixant la liste des agents biologiques pathogènes.

A ce titre, les manipulations des échantillons et les analyses doivent être réalisées conformément aux dispositions prévues par l'arrêté du 16 juillet 2007 fixant les mesures de confinements des laboratoires. Par ailleurs, les recommandations spécifiques aux ATNC doivent être prises en compte selon la circulaire N°DGS/SD5C/DHOS/E2/DRT/CT1/CT2/2004/382 du 30 juillet 2004 définissant les précautions à observer en vue de réduire les risques de transmission d'agents transmissibles non conventionnels et l'instruction N° DGS/RI3/2011/449 du 1er décembre 2011 relative à l'actualisation des recommandations visant à réduire les risques de transmission d'agents transmissibles non conventionnels lors des actes invasifs.

1 – LOCAUX

Les manipulations des échantillons et les analyses doivent être réalisées dans des locaux présentant un niveau de confinement de type 3 tel que défini dans l'annexe II de l'arrêté du 16 juillet 2007 susmentionné. Comme le prévoit cet arrêté, « *Pour les agents classés dans le groupe 3, affectés d'un astérisque dans la liste annexée à l'arrêté du 18 juillet 1994 susvisé, normalement non infectieux par voie aérienne, l'évaluation des risques doit permettre de déterminer si la concentration ou la quantité des agents pathogènes incriminés et la nature des activités permettent de renoncer à certaines mesures de confinement spécifiques du niveau 3* » de telle sorte que certaines mesures peuvent êtres allégées sur la base d'une analyse de risques (*cf.* annexe 1).

a) Règle générale :

Toutes les manipulations d'échantillons et les analyses doivent être réalisées dans des locaux dédiés à cette activité. La réalisation complète du test doit être conçue selon un mode de progression circulaire (marche en avant) au sein d'un seul local strictement dédié à cet effet et clairement identifié comme tel (signalisation du laboratoire).

Ces locaux doivent être séparés des autres locaux au moins par une porte, sans moyen de communication direct avec l'extérieur. L'accès doit en être strictement réglementé (accès limité au personnel autorisé ou accompagné d'une personne autorisée) et verrouillable. La présence d'une fenêtre d'observation permettant de voir les occupants est souhaitable.

Le plan du laboratoire précisant la situation des locaux affectés et leur surface, les règles de circulation, ainsi que les informations relatives au niveau de confinement, aux modalités d'entretien, de désinfection et de gestion des effluents et des déchets, qui ont été joints au dossier de candidature lors de la demande d'agrément ne doivent pas être modifiés sans accord préalable de la DGAL. Toute modification de ces dispositions doit être signalée sans délai au ministre chargé de l'agriculture, Direction générale de l'alimentation (DGAl).

- En particulier, un dossier précisant les conditions de réaffectation des locaux doit être transmis, au préalable, à la DGAL lors d'une cessation d'activité. Le document à produire doit suivre les recommandations stipulées dans la trame (Annexe 3) précisant les dispositions de nature à garantir les niveaux de sécurité requis pour la réhabilitation des locaux ayant servi à la réalisation de tests rapides de dépistage des EST. La DGAL transmet ce dossier au laboratoire national de référence (LNR), en l'occurrence l'ANSES de Lyon, pour évaluation. Cette phase peut nécessiter d'éventuels compléments ou modifications du protocole à la demande du LNR. Une fois l'avis positif délivré par le LNR, la DGAL délivre l'autorisation de procéder aux travaux de désinfection décrits dans le protocole validé. Le laboratoire concerné informe la DGAL de la réalisation effective de ces travaux. La DGAL demande alors au COFRAC de vérifier l'application effective des dispositions prévues dans le protocole évalué par le LNR. Les observations relevées sont transmises à la DGAl qui sera décisionnaire quant à la réaffectation des locaux. En cas d'éventuelles non-conformités identifiées par le Cofrac, la DGAL peut demander au laboratoire de mettre en œuvre des mesures supplémentaires avant d'autoriser la réaffectation des locaux.
- Par ailleurs, en cas de déménagement ou de travaux impactant le local dédié à ces analyses, un dossier comportant le nouveau plan du laboratoire précisant la situation des locaux affectés et leur surface, les règles de circulation, ainsi que les informations relatives au niveau de confinement, aux modalités d'entretien, de

1 « LNR » dans le reste du document. L'entité qui porte le mandat de LNR EST est indiquée dans l'annexe de l'arrêté modifié du 29 décembre 2009 désignant les laboratoires nationaux de référence dans le domaine de la santé publique vétérinaire et phytosanitaire (https://www.legifrance.gouv.fr/loda/id/JORFTEXT000021633143/).

désinfection et de gestion des effluents et des déchets, devra être adressé au préalable à la DGAL pour validation qui demandera l'avis du LNR avant de se prononcer.

b) Dérogation possible :

Il est possible pour un laboratoire de demander à la DGAL une autorisation de cohabitation d'analyses de recherche d'agents biologiques et d'Agents Transmissibles Non Conventionnels dans les mêmes locaux d'un laboratoire. Dans ce cas il conviendra que le laboratoire définisse, au préalable, une procédure organisant la double activité. Cette procédure devra respecter l'ensemble des critères listés dans l'avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à la demande d'avis concernant la cohabitation d'analyses de recherche d'agents biologiques de classe 3 et d'ESB dans les mêmes locaux (Saisine Anses n° 2010-SA-0157). A cette fin, la procédure sera soumise pour avis au LNR EST, avis qui sera pris en compte lors de la décision de la DGAL d'accorder ou non l'autorisation de cohabitation d'analyses au laboratoire l'ayant sollicitée.

2 - PERSONNEL

Tous les personnels impliqués dans l'activité de dépistage, y compris le personnel chargé de l'entretien, reçoivent préalablement à leur prise de fonction une formation spécifique en vue de les autoriser à réaliser les tâches concernées. Elle comprend au minimum une formation aux règles d'hygiène et de sécurité en milieu confiné et, pour les agents chargés de la réalisation des analyses et de la validation des résultats, une formation au travail sous poste de sécurité microbiologique ainsi qu'au respect des règles de sécurité pour la maîtrise du risque biologique. Cette autorisation devra être renouvelée autant qu'il sera nécessaire.

Les équipements minimaux de protection que doit porter le personnel sont mentionnés en annexe 2.

3 – MATERIELS ET EQUIPEMENTS

Le laboratoire agréé doit disposer en permanence du matériel et des équipements nécessaires à la réalisation du ou des tests pour le(s)quel(s) il a obtenu l'agrément.

Tous les matériels et équipements doivent être dédiés à la réalisation des tests pour le dépistage des EST. Leur maintenance et leur entretien courant sont réalisés dans les locaux utilisés pour la réalisation des tests EST, dans le respect des procédures de sécurité des personnes et de l'environnement.

Le laboratoire doit prendre les dispositions nécessaires pour éviter tout risque d'intercontamination et de dissémination de l'agent pathogène dans l'environnement. Dans l'état actuel des connaissances relatives à l'agent pathogène concerné, le laboratoire doit apporter la preuve qu'il maîtrise :

- les conditions environnementales pendant les étapes de broyage (formation et transferts d'aérosols).
- les possibilités d'intercontamination par le matériel. Les dispositions doivent notamment permettre d'assurer l'absence de contamination de l'échantillon d'origine qui pourrait faire l'objet par la suite d'analyse très sensible comme la technique de Protein Misfolding Cyclic Amplification (PMCA) pour une caractérisation d'isolat.

Les contrôles métrologiques en zone de confinement présentent des difficultés particulières. En effet, certaines opérations de contrôle ne peuvent être conduites entièrement dans la zone (raccordement des étalons par exemple). Le laboratoire doit réaliser les étalonnages, vérifications et maintenance de ces équipements selon des modalités qui assurent le respect des conditions de sécurité. D'une façon générale, le laboratoire doit mettre en place des procédures qui lui permettent de réaliser le contrôle de son matériel dans la zone de confinement.

L'élimination et la décontamination du matériel sont traitées dans le paragraphe relatif à la décontamination et au traitement des déchets et effluents.

4 – METHODES

Le laboratoire ne met en œuvre pour le dépistage des EST que le ou les tests pour le(s)quel(s) il a obtenu l'agrément du Ministère chargé de l'agriculture (la liste des laboratoires agréés et tests pour le(s)quel(s) ils disposent d'un agrément est consultable sur le site du ministère chargé de l'agriculture : https://agriculture.gouv.fr/laboratoires-agrees-et-methodes-officielles-en-sante-animale). En cas de changement de test, il doit au préalable avoir obtenu l'avis favorable du LNR EST.

Le laboratoire doit réaliser les analyses de dépistage des EST en respectant en particulier les prescriptions des fournisseurs des réactifs, des consommables et des équipements ainsi que les spécifications de l'autorité compétente.

Les tests rapides qui peuvent être mis en œuvre dans le cadre des programmes de surveillance de l'ESB et de la tremblante doivent être approuvés par la Commission européenne et autorisés par l'autorité compétente. La liste des tests disponibles sont listés dans l'annexe X du règlement (CE) n°999/2001 du Parlement européen et du Conseil du 22 mai fixant les règles pour la prévention, le contrôle et l'éradication de certaines encéphalopathies spongiformes transmissibles. Cette annexe est périodiquement mise à jour, sa dernière révision est disponible sur le site https://eur-lex.europa.eu/. Toute utilisation d'un nouveau kit référencé sur cette annexe, doit être réalisée avec l'accord préalable du LNR.

5 - CONSOMMABLES

De façon générale, l'utilisation de matériel à **usage unique**, dès lors qu'elle est possible, est obligatoire.

Le laboratoire doit disposer à tout moment de tous les consommables nécessaires et à respecter les procédures d'élimination correspondantes. La réutilisation de matériel à usage unique est interdite.

La traçabilité des réactifs (en particulier, consignation du numéro de lot du kit utilisé) doit être assurée pour permettre notamment le transfert des informations vers la base de données nationale (BN ESST), ou tout système d'information indiqué par le Ministère chargé de l'agriculture.

6 –DECONTAMINATION, TRAITEMENT DES DECHETS ET EFFLUENTS

a) Décontamination

Le laboratoire doit élaborer et mettre en place des procédures adaptées pour la collecte, le traitement et l'élimination des déchets et des effluents éventuels. Ces protocoles doivent notamment respecter les règles de sécurité particulières préconisées par l'ANSES reprises ci-dessous et, le cas échéant, par les autorités sanitaires locales :

-les appareillages présentant des surfaces en contact direct avec l'agent infectieux et ne pouvant subir efficacement les traitements physiques et/ou chimiques décontaminants doivent être considérés comme **indécontaminables**. Ces matériels doivent être détruits après leur utilisation pour le dépistage des EST;

- les équipements autres que ceux visés ci-dessus peuvent être utilisés lors d'activité hors EST, dans la mesure où des pratiques de laboratoire de niveau au moins équivalent à celles nécessaires au dépistage des EST restent appliquées ;

- dans le cadre des contrôles d'entretien des appareils, l'intervention de personnel extérieur doit impérativement se faire sous le contrôle d'un membre compétent du laboratoire et selon les modalités définies pour l'ensemble des personnels entrant dans le laboratoire ; aucune manipulation d'agent infectieux ne doit être réalisée au sein du laboratoire pendant cette intervention ;

- les paillasses doivent posséder un plan de travail de nature à supporter un traitement décontaminant de surface efficace eu égard aux ATNC.

b) Traitement des déchets et effluents

Les déchets **solides** (emballages, outils de recoupe, microtubes, pointes de pipette, …, mais aussi matériel de protection à usage unique de type combinaison, gants, sur-chaussures, ...) doivent être stockés dans des poubelles étanches, les outils tranchants devant être, de plus, strictement conditionnés dans des containers adaptés. Ces poubelles doivent être autoclavées à 134–138°C, 3 bars pendant 18 minutes et incinérées à plus de 800°C via la filière DASRI. La décontamination chimique des déchets solides (par l'utilisation par exemple de soude, Javel) ne peut être envisagée. Sous réserve du respect de la réglementation en vigueur pour ce qui concerne les pratiques de laboratoires, un laboratoire peut déroger à la présence obligatoire d'un autoclave tel que défini par la règlementation (arrêté du 16 juillet 2007). Dans ce cas, le laboratoire doit au préalable définir une procédure pour le transfert et l'élimination des déchets solides i) en indiquant les mesures techniques et/ou organisationnelles assurant une parfaite innocuité des parois des containers étanches en contact avec le milieu extérieur (la décontamination chimique des parois des containers étanches (soude, Javel) ne peut pas être envisagée) et ii) en qualifiant les déchets solides auprès de l'établissement autorisé pour leur traitement au titre de déchets susceptibles de contenir des ATNC et n'ayant pas été prétraités pour obtenir une réduction du risque infectieux (absence d'autoclavage à 134-138°C, 3 bars pendant 18 minutes). Cette procédure doit être adressée à la DGAL. Cette procédure sera soumise à l'avis du LNR, avis qui sera pris en compte par la DGAL pour délivrer ou non l'autorisation de dérogation sollicitée.

Aucun déchet liquide ne doit être évacué par les systèmes de collecte usuels (ex : éviers).
Les déchets liquides doivent être inactivés par traitement thermique ou par traitement chimique. Après traitement, les déchets doivent être collectés dans des bidons homologués pour les DASRI liquides puis éliminés via la filière DASRI DIS (Déchets Infectieux Spécifiques). En cas de besoin, ces déchets peuvent être gélifiés.
i) Le traitement thermique consiste à un autoclavage à 134 °C pendant 18 minutes minimum. Les autoclaves utilisés doivent répondre aux spécifications techniques pour le traitement des déchets à risques infectieux.
ii) Le traitement chimique consiste à additionner le déchet liquide :
- d'eau de Javel (concentration finale 6° chlorométrique pendant au moins une heure), en présence ou non de soude (concentration finale 1 N)
ou
- de soude 2 N (concentration finale 1 N, pendant une nuit).

Aucun effluent non traité ne doit être évacué par les systèmes de collecte usuels (ex : éviers).
On entend par effluents les eaux usées qui n'ont pas été directement en contact avec des agents biologiques pathogènes ou des prélèvements biologiques.
Ces effluents peuvent être :
- Traités thermiquement à 134 °C pendant 18 min minimum.
- Traités chimiquement par inactivation à la soude pendant une nuit (réservoirs étanches remplis pour moitié de soude 2 N pour une concentration finale 1N).

7 – TRANSMISSION DES RESULTATS

Les résultats sont transmis selon les instructions définies par le Ministère chargé de l'agriculture et sont réputés satisfaire aux exigences de la norme NF EN ISO/IEC 17025 et du COFRAC relatives à leur présentation.

Le laboratoire doit:

- procéder à l'enregistrement informatique de toutes les données requises figurant sur le document accompagnant l'échantillon. Si les données transmises sont incomplètes, le laboratoire doit contacter sans délai le responsable de l'envoi ;

- assurer la transmission de ces données et de celles concernant les résultats de chaque test dès leur obtention par voie informatique selon les modalités techniques prescrites par le Ministère chargé de l'agriculture, et visées notamment

dans le cahier des charges fixant les modalités de transmission des données par les laboratoires agréés vers la base de données nationale.

Le laboratoire est responsable de la transmission des résultats au Ministère chargé de l'agriculture. Il réalise, dans le respect des procédures établies, toutes les corrections de données nécessaires.

En dehors des conclusions réglementairement définies, aucun avis ni interprétation ne peut figurer sur les rapports d'analyses.

8 - TRANSPORT DES PRELEVEMENTS

Les échantillons biologiques, sont considérés, pour leur transport, comme des matières dangereuses, et relèvent à ce titre de l'arrêté du 29 mai 2009 modifié relatif aux transports de marchandises dangereuses par voies terrestres.

Dans le cadre d'un transport par route, à l'exception de ceux dont on sait qu'ils ne contiennent pas d'agents pathogènes, les échantillons biologiques appartiennent à la classe 6.2 « matières infectieuses ». Le laboratoire est responsable du respect des prescriptions réglementaires applicables à cette classe pour le transport des échantillons entre le lieu de prélèvement et le laboratoire. Il doit être en outre en mesure, si nécessaire, d'assurer cette prestation.

Le transport est effectué dans des conteneurs répondant aux normes réglementaires de sécurité, équipés de systèmes de fermeture inviolables (cadenas, sceau, …). Ces dispositifs doivent garantir que les conteneurs n'ont pas été ouverts entre le moment de leur fermeture par les services officiels du lieu de prélèvement et celui de leur ouverture par le personnel du laboratoire.

Remarques :

1/ Les échantillons prélevés dans le cadre des programmes de dépistage systématique à l'équarrissage ou à l'abattoir doivent être considérés comme des « échantillons de diagnostic » qui, au titre de l'ADR ont été affectés au numéro ONU 3373. L'instruction d'emballage relative au transport de ces échantillons est la P650.

2/ Les échantillons prélevés dans le cadre des autres programmes (suspects cliniques, police sanitaire ou tout autre échantillon issu d'un animal ayant donné un résultat non négatif à un test de dépistage des ESST) relèvent quant à eux du numéro ONU 2814. L'instruction d'emballage relative au transport de ces échantillons est la P620.

La reclassification des matières infectieuses issues des différents programmes en « matières biologiques de catégorie B » ONU 3373 selon l'instruction d'emballage P650 peut être envisagée sur la base d'une évaluation scientifique qui repose sur un jugement de spécialiste et doit être validée par un conseiller à la sécurité sous la responsabilité de la direction du laboratoire.

Lors de la préparation du colis et en raison de l'absence de procédé simple de décontamination, il est important que toutes les mesures soient prises pour éviter tout portage direct ou indirect de l'agent pathogène sur la partie externe de l'emballage secondaire.

9 - CONSERVATION DES ECHANTILLONS

Le laboratoire conserve les échantillons ayant fait l'objet d'une analyse selon les instructions, notamment de durée, du Ministère chargé de l'agriculture. Les échantillons dont l'analyse a permis de rendre un résultat non négatif doivent être transférés dans leur totalité au laboratoire national de référence dans les conditions requises fixées par le Ministère chargé de l'agriculture. Le laboratoire décrit les modalités qui lui permettent de contrôler l'exhaustivité des échantillons dont l'analyse a rendu un résultat non négatif, avant expédition au LNR.

10 - CAPACITES D'ANALYSE

Le laboratoire ne peut pas traiter plus d'échantillons que ses capacités journalières d'analyse, précisées lors de la constitution du dossier d'agrément, ne le permettent.

Toute évolution des conditions de réalisation des analyses, par-rapport au dossier de demande d'agrément, doit être préalablement signalée au Ministère chargé de l'agriculture.

11 - SOUS-TRAITANCE

a) Transport des échantillons

Le laboratoire peut sous-traiter le transport des échantillons en provenance du lieu de prélèvement et lui étant destinés à un prestataire dont il se sera au préalable assuré de la connaissance et de l'engagement de ce dernier à respecter les exigences réglementaires fixées par l'ADR.

b) Prestation d'analyse

En cas d'incapacité technique temporaire d'assurer la prestation d'analyse telle que définie par le présent document, ou pour toute raison justifiée, un laboratoire peut sous-traiter tout ou partie de son activité à un autre laboratoire si :

- le laboratoire auquel est sous-traitée la prestation d'analyse est agréé par le Ministère chargé de l'agriculture pour le dépistage des EST ;
- un courrier mentionnant cette sous-traitance, et sa durée prévisible, est adressé sans délai au Ministère chargé de l'agriculture ;
- la sous-traitance ne doit pas augmenter le délai de transmission du résultat de l'analyse : le laboratoire sous-traitant doit rendre le résultat dans un délai de 12h à compter de la demande initiale .

Dans tous les cas, le laboratoire demandeur demeure responsable :

- de la fourniture à ses clients des consommables de prélèvement ;

- de la collecte et de l’acheminement des échantillons jusqu’au laboratoire sollicité conformément à la réglementation en vigueur (vide supra).

Les rapports d’analyse sont en revanche restitués par le laboratoire ayant effectué l’analyse. Celui-ci est notamment chargé de la transmission des résultats dans la BN ESST ou tout système d’information indiqué par le ministre chargé de l’agriculture.

12 - EVALUATION PAR LE COFRAC

Lors de l’évaluation Cofrac, les observations relatives aux recommandations et prescriptions du présent document seront communiquées à la DGAl, autorité en charge du suivi de l’agrément. Ces observations ne feront pas l'objet de la notification d'un écart par rapport aux référentiels d'accréditation.

ANNEXE 1

Extrait de l'ANNEXE II de l'arrêté du 16 juillet 2007 fixant les mesures techniques de prévention, notamment de confinement, à mettre en œuvre dans les laboratoires de recherche, d'enseignement, d'analyses, d'anatomie et cytologie pathologiques, les salles d'autopsie et les établissements industriels et agricoles où les travailleurs sont susceptibles d'être exposés à des agents biologiques pathogènes.

Extrait complété des précisions et allègements possibles à la manipulation de ATNC : chaque allègement doit faire l'objet de l'évaluation des risques sous la responsabilité de la direction du laboratoire.

MESURES DE CONFINEMENT DANS LES SALLES dédiées aux activités techniques (analyses microbiologiques, mycologiques ou parasitologiques)	NIVEAUX DE CONFINEMENT 3	Précisions et allègements[2] possibles à la manipulation d'ATNC
a) Conception		
1. Accès via un sas muni de portes asservies ne pouvant pas s'ouvrir simultanément.	Oui	Cette mesure est exigée (Sas ou local tampon sans communication avec l'extérieur)
2. Possibilité de fermer hermétiquement la salle dédiée aux activités techniques pour permettre la désinfection.	Oui	Optionnel
3. Filtration de l'air entrant dans la salle dédiée aux activités techniques (filtre à particule à très haute efficacité : HEPA).	Oui	Optionnel
4. Filtration de l'air extrait de la salle dédiée aux activités techniques (filtre HEPA).	Oui	
5. Fenêtres fermées pendant la manipulation.	Oui, hermétiquement closes	
6. Maintien d'une pression négative dans la salle dédiée aux activités techniques par rapport aux zones voisines.	Oui (1)	Dépression non obligatoire
7. Système d'alarme pour détecter tout changement anormal de la pression de l'air.	Oui	Optionnel
8. Approvisionnement en énergie électrique de secours.	Optionnel	
9. Système de ventilation de secours.	Optionnel	
b) Aménagements internes		
1. Présence au moins d'un poste de sécurité microbiologique.	Oui	
2. Surfaces imperméables à l'eau, résistantes aux	Oui : sols, murs	

2 Lors d'allègement, à justifier au cas par cas.

agents de nettoyage et de désinfection sans endroits inaccessibles au nettoyage.	et plafonds (2)	
3. Présence d'une douche à proximité de la salle dédiée aux activités techniques.	Optionnel	
5. Présence d'un autoclave.	Oui, dans la salle dédiée aux activités techniques, à double entrée ou à proximité immédiate (3)	
c) Pratiques opératoires		
1. Inactivation des déchets contaminés avant leur sortie de l'établissement.	Oui	
2. Inactivation des agents biologiques dans les effluents par des moyens appropriés.	Oui	

Oui : exigence.

Non : pas d'exigence.

Optionnel : doit être décidé, au cas par cas, sur la base de l'évaluation des risques, à la suite de laquelle ces mesures devront - ou non - être appliquées.

(1) Pour les installations existantes, cette exigence est applicable au plus tard trois ans après la publication de l’arrêté du 16 juillet 2007 fixant les mesures techniques de prévention, notamment de confinement, à mettre en œuvre dans les laboratoires de recherche, d'enseignement, d'analyses, d'anatomie et cytologie pathologiques, les salles d'autopsie et les établissements industriels et agricoles où les travailleurs sont susceptibles d'être exposés à des agents biologiques pathogènes.

(2) Pour les installations existantes, cette exigence est applicable au plus tard deux ans après la publication de l’arrêté du 16 juillet 2007 fixant les mesures techniques de prévention, notamment de confinement, à mettre en œuvre dans les laboratoires de recherche, d'enseignement, d'analyses, d'anatomie et cytologie pathologiques, les salles d'autopsie et les établissements industriels et agricoles où les travailleurs sont susceptibles d'être exposés à des agents biologiques pathogènes.

(3) Mise en place de procédures validées, permettant le transfert vers un autoclave extérieur au local, conférant la même protection et contrôlées dans leur déroulement.

ANNEXE 2

Mesures de sécurité et niveaux de confinement

I) Identification des dangers et risques biologiques

Il existe des risques pour le manipulateur au cours des étapes visant à extraire, concentrer (éventuellement) puis détecter la protéine prion pathologique (PrP^{SC}). Pour une bonne maîtrise des risques, le personnel doit avoir une complète identification des expositions auxquelles il est sujet.

Par ailleurs, l'évaluation des risques doit prendre en considération la nature et la quantité du matériel biologique manipulé ainsi que les voies de contaminations possibles ; oro-nasale (éclaboussures, aérosols, pulvérisations), conjonctivale (éclaboussures, aérosols, pulvérisations) et cutanée (blessures avec du verre cassé, piqûre de type aiguille/pipette …)

II) Protection du manipulateur

Au regard des risques identifiés, le niveau de protection primaire du manipulateur peut se décliner au travers de la **nécessité** des **aménagements internes** et des **pratiques opératoires.** Il est notamment conseillé :

- dès l'entrée du personnel dans le laboratoire, le port **obligatoire** d'une combinaison jetable, d'une charlotte, d'une paire de gants, de lunettes de protection (ou masque à visière), et d'une paire de sur-chaussures. Ces vêtements de protection doivent se trouver dans le local (vestiaire ou patère) et ne doivent en aucun cas en sortir (y compris la combinaison), sauf au travers des procédures d'élimination appropriées. Ces vêtements doivent donc être jetés **avant la sortie du local**. A titre exceptionnel, ces vêtements peuvent être quittés, avant la sortie du local et réutilisés par la même personne à condition que leur état ne présente aucun défaut.
- dès lors que le manipulateur entame le traitement des échantillons potentiellement infectés, le port obligatoire d'une **deuxième paire de gants** superposée à la première. La deuxième paire de gants doit être jetée dès que le manipulateur cesse son activité technique. Le manipulateur doit veiller à quitter cette deuxième paire de gants lors de toute interruption de son travail (appel téléphonique, …).
- la réalisation obligatoire des étapes de reconditionnement, de recoupe, et de broyage des échantillons dans un **système dédié à cet usage**, assurant une **protection physique** du manipulateur et minimisant au maximum les risques de projections et la formation locale d'aérosols (poste de sécurité microbiologique - PSM) grâce au confinement des matières infectieuses. Des conteneurs spécifiques pour les objets piquants ou tranchants souillés doivent également être prévus dans la surface de travail.
- la réalisation des phases d'extraction et/ou concentration (ouverture de microtubes, homogénéisation, pipetage et addition de tampons, ouverture de plaques ELISA et distribution des échantillons et/ou réactifs) dans un **système de confinement dédié à cet usage** et assurant également une **protection physique** du manipulateur (PSM). Le niveau de protection nécessaire pour ces étapes pourra néanmoins être précisé plus avant en fonction du test utilisé.
- l'identification et le stockage en lieu sûr et verrouillable des prélèvements et reliquats d'homogénats testés (congélateurs).

Les **appareillages** présentant un risque de générer des éclaboussures, aérosols, pulvérisations doivent permettre le confinement des matières infectieuses. Les autres appareillages peuvent être situés sur paillasse.

Toutefois, tous les appareillages doivent être considérés comme contaminés, bien qu'à des niveaux très probablement variables (l'existence d'un rotor étanche peut, par exemple, permettre de considérer la centrifugeuse correspondante comme non contaminée). Ici encore, en fonction du test utilisé, un descriptif plus détaillé des contraintes liées aux appareillages pourra être proposée.

ANNEXE 3

Trame pour une demande de changement de destination de locaux dédiés à la réalisation des tests rapides de dépistage des EST

A - Plan (au minimum traiter les différents points ci-dessous, le point IX est à remettre après la réalisation des opérations) :

I Motifs de réaffectation du laboratoire

II Historique des analyses effectuées

III Destination future des locaux

IV Cahier des charges techniques pour la réaffectation

V Liste des « matériels Prion » et devenir de ces matériels

VI Plan d'intervention (description technique afin d'obtenir la réhabilitation des locaux)

VII Planning d'intervention

VIII Données de traçabilité pour le suivi des matériels, des opérations, des archives

IX Rapport de décontamination (Bilan de l'opération, certificat d'éliminations des déchets, identification des problèmes éventuels, justificatifs/preuves de traitement des locaux …)

Annexes – (Justificatifs administratifs, Justificatifs réglementaires, ensemble des procédures de fonctionnement du laboratoire, fiches de données de sécurité des produits utilisés, ensemble des procédures pour la réaffectation des locaux)

B - Bases du cahier des charges techniques pour la réaffectation :

Les agents infectieux non conventionnels responsables des EST (Encéphalopathies Spongiformes Transmissibles) sont particulièrement résistants aux méthodes de décontamination courantes. Leur structure protéique offre une très grande résistance à la plupart des procédés connus de désinfection et de stérilisation. En particulier, il a été montré que la plupart des désinfectants (alcool, formaldéhyde, phénols etc.) sont inefficaces pour la décontamination des EST. Plus encore, certains d'entre eux préservent le caractère infectieux des EST : l'alcool, le formaldéhyde ou le glutaraldéhyde. Dans ces conditions, le matériel contaminé ne doit pas être exposé à des fixateurs et doit être maintenu humide jusqu'au moment de la décontamination (WHO, 1999) ; la méthode la plus efficace et la plus sûre étant l'incinération.

Cependant, quatre agents chimiques ont démontré une réduction de plus de 4log du titre infectieux des EST : le chlore, les composés phénoliques, le thiocyanate de guanidine et l'hydroxyde de sodium (guide de bonnes pratiques de prévention pour les travaux de recherche sur les prions). Parmi ces procédés, deux sont classiquement utilisés pour une inactivation maximale des EST ; le trempage dans la soude 1N, le trempage dans l'eau de Javel à 2% de chlore actif pendant 1 heure (Circulaire N°DGS/SD5C/DHOS/E2/DRT/CT1/CT2/2004/382 du 30 juillet 2004) et de manière générale il est reconnu que le chlore est celui qui présente la meilleure efficacité. Son usage est cependant limité par ses propriétés corrosives.

Depuis 2011, l'instruction n°DGS/RI3/2011/449 du 1er décembre 2011 relative à l'actualisation des recommandations visant à réduire les risques de transmission d'agents transmissibles non conventionnels lors des actes invasifs, identifie les techniques et modalités de traitements pour une inactivation maximale des EST comme devant être répertoriées dans la liste des produits inactivants totaux tel que défini par l' Agence Nationale de sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM) suivant le Protocole Standard Prion en vigueur (http://ansm.sante.fr/Dossiers/Creutzfeldt-Jakob-et-produits-de-sante/Protocole-Standard-Prion/(offset)/0).

Par ailleurs, un nouveau procédé de traitement au peroxyde d'hydrogène (inactivation chimique avec du peroxyde d'hydrogène à la concentration de 1.5g/m3 durant 1 heure minimum) a également démontré des propriétés de décontamination eu égard aux EST.

Lors de la décontamination de locaux et/ou de matériels il est conseillé, pour favoriser l'inactivation des EST et 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 (Guide de bonnes pratiques). Par ailleurs, trois autres mesures sont généralement préconisées :

- Les surfaces à décontaminer sont de préférence traitées avec du matériel absorbant qui par la suite est éliminé par incinération ; ce matériel absorbant est également utilisé pour éponger les liquides répandus.
- 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 déchets inactivés ou non ainsi que le matériel non recyclé doivent être dans tous les cas éliminés via la filière DASRI.

Dans ces conditions, le déclassement des locaux sera réalisé par du personnel habilité au travail en zone de sécurité dédiée à la manipulation des EST selon les recommandations listées ci-dessus, et cette réaffectation se réalisera en 4 étapes distinctes :

- Retrait et évacuation du matériel en place avant réaffectation des locaux

- Décontamination du mobilier devant rester dans le laboratoire après mise à blanc

- Décontamination de l’immobilier (sol, mur plafond)
- Décontamination des canalisations

C - Estimation des niveaux de contamination par les EST :

Pour définir le cahier des charges, quatre niveaux de probabilités de contamination ont été définis :

**** : contact avéré ou possible avec des MRS (Matériel à Risque Spécifique, considérés comme représentant un risque au regard des EST) à contamination résiduelle probable

*** : Contact par portage fréquent ou possible à contamination accidentelle non exclue

** : Contact par portage improbable ou rare(1) à contamination improbable

* : Contact par portage impossible, hors acte malveillant(2) à non contaminé

(1) *Surfaces peu accessibles aéroportage accidentel non exclu (dessous des appareils …)*

(2) *Surfaces non accessibles aux opérateurs en condition normale de travail, aéroportage improbable (plafond, dessous de paillasse, arrière/dessus des PSM …)*

De manière simple nous appliquons la règle du 80/20 ; 80% de la contamination doit se trouver sur 20 % de la surface totale (en priorité sur la surface classée ****). Dans ces conditions 20% de la contamination peut être qualifiée de diffuse. Pour chacun des niveaux de contamination nous avons arrêté un mode de traitement adapté au niveau de contamination supposé :

- Traitement maximal : 2 nettoyages avec détergent, deux étapes de décontamination chimique de 1 heure
- Traitement usuel : 1 nettoyage avec détergent, une étape de décontamination chimique de 1 heure
- Traitement simple : 1 nettoyage avec détergent, une étape de lessivage chimique
- Traitement minimal : 1 lessivage avec détergent, une étape de lessivage chimique

D - Choix de traitement pour le mobilier et l'immobilier

Les éléments identifiés seront traités selon la classification que nous avons établi ce qui correspond à :

- éliminations
- réaffectations en L3 PRION ou stockage avant élimination
- traitements maximaux
- traitements usuels
- traitements simples
- traitements élémentaires

De façon détaillée :

1 Les éléments présentant un risque de contamination probable (a priori classé ****) doivent être, selon cet ordre de priorité, réaffectés dans un laboratoire Prion, détruits ou **traités de manière maximale**.

2 Les éléments présentant un risque de contamination possible (a priori classé ***) doivent être, selon cet ordre de priorité, réaffectés dans un laboratoire Prion, détruits ou **traités usuellement**.

3 Les éléments présentant un risque de contamination improbable (a priori classé **) doivent être, selon cet ordre de priorité, réaffecté dans un laboratoire Prion, détruits ou **traité de manière simple.**

4 Les éléments présentant un risque de contamination improbable (a priori classé *) doivent être inclus dans le processus de décontamination et traités de manière minimale.