

Procédure Normalisée de Fonctionnement

| | |
|---|--|
| TITRE : UTILISATION ET DÉCONTAMINATION DU LABVET DU BIOCONFINEMENT II | NUMÉRO : BC-5 |
| DESTINATAIRES : Usagers et personnel du Service des animaleries | Version 1 : 15.05.09 Version 7 : 05.12.2019 |
| ÉMISE PAR : Normand Lapierre, T.S.A. et Sophie Ouellet, T.S.A. CORRIGÉE : Manon St-Germain, directrice et vétérinaire | CIPA : 20.01.2020 |
| APPROUVÉE PAR : Manon St-Germain, directrice et vétérinaire | DATE : 02.06.2009 |
| BUT : Décrire l'utilisation de l'appareil d'anesthésie Labvet pour rats et souris en bioconfinement II et les mesures efficaces pour le décontaminer entre chaque utilisation. | |

MATÉRIEL :

- Appareil à anesthésie, tubulures, masque, boîte d'induction, filtre charbon, filtre 0.5 micron
- Isoflurane et clé de remplissage
- pastille de Virkon® 5g
- Bac de trempage et vaporisateur
- Papier brun ou chiffon propre
- Coussin chauffant (longues procédures)
- Sac biomédical et attache de plastique

SANTÉ ET SÉCURITÉ :

- L'effet foetotoxique de l'Isoflurane n'a pas été prouvé. Les femmes enceintes devraient consulter leur médecin avant de travailler avec cet anesthésique.
- Se référer aux F.D.S. disponibles dans le SB-M415 pour connaître les risques reliés à la manipulation de l'Isoflurane et du Virkon®.
- En cas de déversement de produits chimiques, se référer aux fiches d'urgence affichées près des téléphones dans le SB-M415, SB-M426, SB-M450 et SB-M470.
- Les P.N.F. **BC-1.RÈGLES DE BONNE CONDUITE EN BIOCONFINEMENT II** et **BC-2.CODE VESTIMENTAIRE EN BIOCONFINEMENT II** s'appliquent à cette P.N.F.

PROCÉDURES :

A. Utilisation

1. Mettre en fonction et nettoyer l'enceinte de sécurité biologique (ESB) du SB-M450 selon la P.N.F. **E-1 ENTRETIEN ET UTILISATION DES ENCEINTES DE SÉCURITÉ BIOLOGIQUE (ESB)**.
2. Enlever la toile de protection de l'appareil d'anesthésie.
3. Amener l'appareil à anesthésie du chariot à l'ESB.

4. Installer les tubulures d'entrée et d'évacuation des gaz ainsi que la boîte d'induction sous l'ESB en prenant soin de ne pas obstruer les bouches de circulation d'air de l'ESB. Installer le filtre de 0.5 micron entre le système bain et le masque.
5. Ouvrir la valve de la bonbonne d'O₂ médical. Vérifier le manomètre de droite pour la présence d'O₂. Changer la bonbonne lorsque le manomètre indique un volume inférieur à 200 psi.
6. Apporter la cage de l'animal à anesthésier.
7. Vaporiser l'extérieur de la cage avec du Virkon® 1 % avant de l'introduire sous l'ESB.
8. Ouvrir la cage sous l'ESB.
9. Déposer l'animal dans la boîte d'induction.
10. Ouvrir le débitmètre du Labvet à 1L/minute. Le point blanc au centre du curseur indique le débit.
11. Commencer l'induction en ouvrant le vaporisateur entre 3 et 5 %.
12. Une fois l'animal induit, sortir et déposer l'animal sur du papier (pour prévenir l'hypothermie). Pour les longues procédures, prévoir un coussin chauffant.
13. Mettre le museau de l'animal dans le masque pour le maintenir sous anesthésie. Utiliser un gant de latex fixé avec un élastique sur le masque à rat. Faire faire un petit trou dans le gant avec des ciseaux, à mi-chemin entre le milieu et le bas du masque pour les souris et au centre du masque pour les rats, pour permettre d'y insérer le museau de façon étanche.
14. Ajuster le débit d'oxygène à 0,5 L/minute lors de l'utilisation seul du masque et à 1,5L/minute lors de l'utilisation conjointe de la boîte à induction et du masque. Brancher ou débrancher les lignes de gaz frais à l'appareil à anesthésie selon les composantes utilisées (boîte à induction, masque ou les deux).
15. Maintenir l'animal anesthésié entre 1.5 et 2.5 %.
16. Vérifier l'absence du réflexe de retrait avant d'amorcer toute procédure sur l'animal.
17. Effectuer la procédure sur l'animal.
18. Lorsque toutes les procédures nécessitant une anesthésie sont terminées, fermer le vaporisateur (un déclic doit être entendu pour la fermeture complète du vaporisateur).
19. Remettre l'animal dans sa cage.
20. Fermer la valve de la bonbonne d'O₂. Attendre que le curseur du débitmètre soit à zéro.
21. Fermer le débitmètre.
22. Vérifier que l'animal est réveillé avant de retourner la cage dans le local d'hébergement.

23. Enlever les tubulures d'entrée et d'évacuation des gaz de l'appareil à anesthésie.

24. Remplir l'appareil d'anesthésie d'Isoflurane à l'aide de la clé de remplissage.

25. Procéder à la décontamination selon la procédure décrite ici-bas

26. Remettre l'appareil à anesthésie sur le chariot prévu à cet effet.

27. Recouvrir l'appareil avec la toile protectrice.

B. Décontamination

1. Avant de sortir l'appareil à anesthésie de l'ESB, vaporiser généreusement au Virkon® 1% un chiffon propre et nettoyer les composantes externes de l'appareil à anesthésie en portant une attention particulière à la boîte d'induction.
2. Pour préparer une solution fraîche de Virkon® 1%, incorporer 10 pastilles Virkon® dans 5L d'eau dans le bac en plastique prévu à cet effet. Mélanger à la main pour dissoudre la poudre (**toujours** avoir les mains gantées).
3. Déposer les tubulures d'entrée et d'évacuation des gaz ainsi que le masque dans le bac de trempage pendant 10 minutes.
4. Rincer pendant 1 minute à l'eau claire les tubulures et le masque.
5. Suspendre les tubulures de façon à ce que l'eau s'égoutte.
6. Essuyer le masque avec du papier sec.
7. Déposer le filtre 0.5 micron dans un sac biomédical scellé avec une attache de plastique et vaporiser le sac au Virkon® 1%.

N.B. : Le filtre au charbon servant à la récupération des gaz anesthésiques doit être pesé avant sa première utilisation. Le poids est noté sur le filtre à l'endroit prévu à cet effet. Il peut être réutilisé pour d'autres procédures impliquant le même agent pathogène. Il faut peser le filtre après chaque utilisation. Lorsqu'une augmentation de 50 grammes par rapport à son poids initial est observée, jeter le filtre. À ce point, déposer le filtre au charbon dans un sac biomédical scellé avec une attache de plastique et stérilisé à la vapeur avant d'en disposer définitivement.

Pièces jointes : rapports d'efficacité de filtration virale et bactérienne.



FINAL REPORT

BACTERIAL FILTRATION EFFICIENCY
AT AN INCREASED CHALLENGE LEVEL

PROTOCOL NO. 200519402-01

LABORATORY NO. 323692

PREPARED FOR:

SID YNTEMA
GLOBALMED INC.
POST OFFICE BOX 340
155 NORTH MURRAY STREET
TRENTON, ONTARIO
CANADA K8V 5R5

SUBMITTED BY:

NELSON LABORATORIES, INC.
6280 SOUTH REDWOOD ROAD
SALT LAKE CITY, UT 84123-6600
801-963-2600





NELSON LABORATORIES, INC.
STUDY DIRECTOR GLP CERTIFICATION

USFDA (21 CFR PART 58)

USEPA (40 CFR PART 160)

BACTERIAL FILTRATION EFFICIENCY
AT AN INCREASED CHALLENGE LEVEL

I CERTIFY THAT THE TEST WAS CONDUCTED IN ACCORDANCE
WITH THE USFDA OR USEPA REGULATIONS AS NOTED ABOVE.

LABORATORY NO. 323692

STUDY DIRECTOR:

Stacy Smith

DATE:

12/12/2016



BACTERIAL FILTRATION EFFICIENCY
AT AN INCREASED CHALLENGE LEVEL

| | |
|----------------------------|----------------------------------|
| LABORATORY NUMBER: | 323692 |
| PROTOCOL NUMBER: | 200519402-01 |
| SAMPLE SOURCE: | GlobalMed Inc. |
| SAMPLE IDENTIFICATION: | Refer to Table 1 P.O. #001618 |
| DEVIATIONS: | None |
| DATA ARCHIVE LOCATION: | Sequentially by lab number |
| PROTOCOL APPROVAL DATE: | 24 Mar 2006 |
| SAMPLE RECEIVED DATE: | 13 Mar 2006 |
| LAB PHASE START DATE: | 24 Mar 2006 |
| LAB PHASE COMPLETION DATE: | 10 Apr 2006 |
| REPORT ISSUE DATE: | 11 Apr 2006 |

ACCEPTANCE CRITERIA:

The mean particle size of the challenge aerosol must be maintained at $3.0 \pm 0.3 \mu\text{m}$.

The average percent bacterial filtration efficiency (%BFE) for the reference material must be within the upper and lower control limits established for the bacterial filtration efficiency (BFE) test.

INTRODUCTION:

This report describes the procedure and results of the BFE at increased challenge level testing. This procedure was performed to determine the filtration efficiency of the test materials using a ratio of the challenge to effluent to determine percent efficiency. This procedure allowed a reproducible aerosol challenge to be delivered to each of the test materials. This test procedure employed a challenge level of greater than 10^6 colony forming units (CFU) per test sample, providing a higher challenge than would be expected in normal use.

JUSTIFICATION:

This BFE test provides a number of advantages over other filtration efficiency tests. The use of all glass impingers (AGIs) in the collection process allowed a high concentration of challenge to be delivered to each test material. The aerosol challenge particle size can be tightly controlled by monitoring the airflow and challenge flow through the nebulizer. The aerosol particles can be sized using a six-stage viable particle Andersen sampler.

NELSON

LABORATORIES

GlobalMed Inc.
Lab Number 323692

BFE at an Increased Challenge Level
Page 5 of 8

PROCEDURE:

Approximately 100 mL of soybean casein digest broth (SCDB) was inoculated with *Staphylococcus aureus*, ATCC #6538, and incubated with mild shaking for 24 ± 4 hours at $37 \pm 2^\circ\text{C}$. The culture suspension was pumped through a 'Chicago' nebulizer using a peristaltic pump at a controlled flow rate and fixed air pressure. The constant challenge delivery formed aerosol droplets of defined size. The challenge level was adjusted to provide a consistent challenge of greater than 10^6 CFU per test sample.

The droplets were generated in a glass aerosol chamber and drawn through the sample holder and into AGIs in parallel. The AGIs contained 30 mL aliquots of sterile peptone water (PEPW) to collect the aerosol droplets. The aerosol challenge flow rate through the test filter was maintained at 30 Liters per minute (Lpm).

The challenge was delivered for a 1 minute interval and sampling through the AGIs was conducted for 2 minutes to clear the aerosol chamber. Control runs (no media in sample holder) were performed after every 5-7 test samples to determine the number of viable particles being generated in the challenge aerosol.

The assay fluid in the AGIs was assayed using standard plate count or membrane filtration techniques. All plates were incubated at $37 \pm 2^\circ\text{C}$ for 48 ± 4 hours prior to counting.

STATEMENT OF UNCERTAINTY:

If applicable, the statement of uncertainty is available to sponsors upon request.

RESULTS:

The filtration efficiencies were calculated using the following equation:

$$\% \text{ BFE} = \frac{C - T}{C} \times 100$$

Where: C = Average of control values.
T = Count total for test material.

The mean particle size (MPS) of the challenge aerosol was determined using a six-stage Andersen sampler. The challenge level, MPS, and filtration efficiencies of the samples are summarized in Table 1.



GlobalMed Inc.
Lab Number 323692

BFE at an Increased Challenge Level
Page 6 of 8

CONCLUSION:

Interpretation of the data is the responsibility of the sponsor and no conclusion can be made by Nelson Laboratories.



Technical Reviewer



Stacey Cushing, B.S.
Study Director



Study Completion Date

mp



GlobalMed Inc.
Lab Number 323692

BFE at an Increased Challenge Level
Page 7 of 8

TABLE 1. BFE Results
Lot #2/28/06

| SAMPLE IDENTIFICATION | TOTAL CFU RECOVERED | FILTRATION EFFICIENCY |
|-----------------------|---------------------|-----------------------|
| 2/28/06 – 1 | 147 | 99.9976% |
| 2/28/06 – 2 | 111 | 99.9982% |
| 2/28/06 – 3 | 126 | 99.9979% |
| 2/28/06 – 4 | 177 | 99.9971% |
| 2/28/06 – 5 | 67 | 99.9989% |
| 2/28/06 – 6 | 110 | 99.9982% |

Challenge Level: 6.0 x 10⁶ CFU

Mean Particle Size (MPS): 2.9 μm



NELSON LABORATORIES, INC.

QAU AUDIT STATEMENT

 USFDA (21 CFR PART 58) USEPA (40 CFR PART 160)BACTERIAL FILTRATION EFFICIENCY
AT AN INCREASED CHALLENGE LEVEL

Study Director:

Final Report Dated:

Stacey Cushing, B.S.11 Apr 2006

1. The test was conducted in accordance with the USFDA or USEPA Regulations as noted above. All laboratory results pertaining to this study are recorded in Nelson Laboratories' Data File Number 323692.
2. In accordance with the Good Laboratory Practice Regulations, the Challenge Procedure phase(s) of this study was inspected by the Quality Assurance Unit on: 04 Apr 2006. The findings of the inspection(s) were reported to Management and to the Study Director on: 10 Apr 2006.
3. The Quality Assurance Unit has reviewed this report and has determined that the methods and standard operating procedures are accurately described, and that the reported results accurately reflect the raw data.
4. The name of the study director, the names of other scientists or professionals, and the names of all supervisory personnel, involved in the study:

Stacey Cushing
Stephanie Wright
Todd HillamDr. Jerry Nelson
Jeff Hills

QUALITY ASSURANCE:

Stephanie Wright

DATE:

14 Apr 2006