

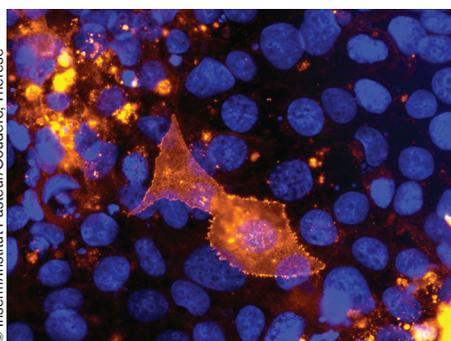
DOSSIER

LE RISQUE BIOLOGIQUE EN LABORATOIRE DE RECHERCHE

MIEUX LE CONNAÎTRE POUR L'ÉVALUER ET LE PRÉVENIR



Qu'est-ce que le risque biologique ? Comment l'appréhender ? Que faire lorsqu'il survient ? Ce dossier reprend toutes ces questions afin d'orienter le personnel vers une meilleure prévention et un meilleur traitement de ce risque aujourd'hui prépondérant dans les structures de recherche.



Détection du virus chikungunya dans des cellules humaines en culture en microscopie à fluorescence.

QU'EST-CE QU'UN MICRO-ORGANISME ?
 Parmi les micro-organismes, on trouve des bactéries, des virus, des champignons. Certains sont pathogènes et peuvent provoquer une maladie, d'autres ne le sont pas comme ceux présents dans la flore intestinale.

Quand parle-t-on de risque biologique ?

Lorsque les personnels sont exposés à des agents biologiques pouvant provoquer une infection, une allergie ou une intoxication. Ces agents sont constitués de micro-organismes génétiquement modifiés ou non, de cultures cellulaires et d'endoparasites.

Quelles situations présentent un risque biologique ?

En premier lieu, la manipulation de micro-organismes pathogènes, mais aussi la manipulation d'échantillons biologiques, d'animaux, d'OGM, de cultures cellulaires, sans oublier la manipulation de déchets biologiques ou de matériel souillé comme la verrerie.

Quels sont les pathogènes rencontrés à l'Inserm ?

On dénombre trois types de pathogènes : les pathogènes pour l'homme, les animaux ou les plantes. À l'Inserm, les personnels sont principalement concernés par les premiers,

mais ils peuvent être amenés à utiliser des pathogènes animaux comme modèles d'étude. Les micro-organismes sont classés selon 4 groupes de risques. Le premier comprend les micro-organismes qui ne sont pas pathogènes pour l'homme. Les 3 autres sont classés selon leur risque de gravité.

Par ailleurs, le classement tient compte des risques à la fois pour l'individu (infectiosité, gravité de la maladie, possibilité de traitement) et pour la population (facilité de la transmission interhumaine, existence d'un vaccin, existence ou non d'un traitement ou d'une prophylaxie).

Où sont manipulés ces micro-organismes ?

Les micro-organismes sont manipulés dans des laboratoires qui nécessitent un confinement particulier. Ainsi, il existe 4 niveaux de confinement. Le niveau 1 correspond à un laboratoire conventionnel et les niveaux 2, 3 et 4 concernent des laboratoires de confinement biologique de sécurité croissante. Le confinement est assuré par trois éléments

CLASSEMENT DES MICRO-ORGANISMES EN 4 GROUPES

	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3	Groupe 4
Pathogène pour l'homme	Non	Oui, maladie peu grave	Oui, maladie grave	Oui, maladie mortelle
Existence d'une prophylaxie ou d'un traitement	/	Prophylaxie et traitement	Prophylaxie ou traitement	Ni prophylaxie, ni traitement
Exemples	Levure de bière (<i>saccharomyces cerevisiae</i>), <i>Escherichia coli</i> utilisé en biologie moléculaire	Staphylocoque doré, virus de l'herpès	VIH, virus des hépatites B et C, <i>Yersinia pestis</i> , la bactérie à l'origine de la peste	Virus Ebola



© Inserm/Latron, Patrice

Laboratoire P4 (pathogène de classe 4) Jean Mérieux/Inserm, Lyon. Ces laboratoires de sécurité maximale sont totalement hermétiques et comportent plusieurs sas de décontamination et des portes étanches. Les chercheurs travaillant dans leurs enceintes sont revêtus d'un scaphandre sous pression positive relié à l'une des prises fournissant de l'air dont le renouvellement est totalement indépendant du laboratoire.

indissociables pour assurer la protection des personnels et de l'environnement :

→ la conception des locaux, soumise à différents critères :

- étanchéité,
 - présence d'un sas,
 - pressions relatives de la salle technique et du sas,
 - filtration de l'air entrant et sortant,
 - nature des revêtements du sol, des murs, du plafond et des surfaces de travail ;
- le choix d'équipements spécifiques comme le poste de sécurité microbiologique (PSM) et les équipements de protection individuelle (EPI) ;

→ une bonne organisation incluant :

- des procédures écrites décrivant les méthodes de travail, de nettoyage et de désinfection,
- le respect d'une bonne gestuelle,
- la gestion des déchets.

Ainsi, un micro-organisme non pathogène pourra être manipulé en laboratoire conventionnel alors qu'un pathogène de groupe 2 devra l'être en laboratoire de confinement biologique de niveau 2.

Par exemple, le virus Ebola, responsable de l'épidémie de 2014 en Afrique de l'Ouest, qui a provoqué la mort de plusieurs milliers de personnes, est classé dans le groupe de risque 4. Ce genre de virus doit obligatoirement être manipulé en laboratoire de niveau 4. Le laboratoire P4 Jean Mérieux de l'Inserm à Lyon en est un exemple.

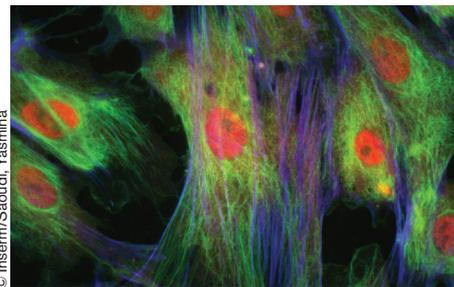
Il faut noter qu'à côté des laboratoires de confinement, il existe aussi des animaleries de confinement.

Manipule-t-on uniquement des micro-organismes dans ces laboratoires ?

Non. Les personnels peuvent également être amenés à manipuler des échantillons biologiques d'origine humaine ou animale ainsi que des OGM.



© Inserm/Guénéet, François



© Inserm/Saoudi, Yasmina

Après traitement au taxol, une drogue stabilisant les microtubules, le cytosquelette des fibroblastes est visualisé, l'actine en bleu, le réseau de microtubules en vert et les noyaux en rouge.



QU'APPELLE-T-ON DES MOT ?

Les MOT sont des micro-organismes ou toxines hautement pathogènes qui présentent un risque pour la santé humaine en cas de rejet dans l'environnement. La réglementation qui couvre les MOT encadre la sécurité (rejet accidentel), mais aussi la sûreté (rejet intentionnel ou actes de malveillance).

Toute opération mettant en œuvre des MOT, notamment la détention ou l'utilisation, mais aussi le transport, nécessite une autorisation délivrée par l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM). La délivrance

de l'autorisation est soumise à une inspection des installations où sont réalisées les opérations pour vérifier la conformité des locaux, la qualification des personnes et la validation de toutes les procédures mises en œuvre.

QU'EST-CE QU'UN OGM ?

On appelle OGM tout organisme dont le matériel génétique a été modifié autrement que par multiplication ou recombinaison naturelle.

Toute mise en œuvre d'OGM nécessite soit une déclaration, soit une demande d'agrément.

Les démarches réglementaires sont effectuées auprès du Haut Conseil

des biotechnologies qui évalue les risques et détermine le niveau de confinement en fonction de l'utilisation visée. L'obligation de confinement de tout OGM implique des mesures particulières en matière d'inactivation et d'élimination des déchets.

Quelques exemples d'OGM que l'on peut trouver à l'Inserm :

- des animaux transgéniques,
- des bactéries transformées par un plasmide,
- des cellules eucaryotes transfectées par un plasmide,
- des cellules infectées par des vecteurs viraux recombinants,
- des animaux infectés par un virus OGM.



© Inserm/Delapierre, Patrick

Plateforme de vectorologie : renouvellement d'un milieu de culture de cellules (HEK 293T) sous poste de sécurité microbiologique type II (PSM II).

Comment déterminer le niveau de confinement à utiliser ?

Toute manipulation doit être précédée par une évaluation des risques. Le résultat de cette évaluation permet de déterminer le niveau de confinement des différentes étapes de l'expérience. Deux outils sont à notre disposition pour faciliter l'analyse des risques :

- le classement des micro-organismes,
 - l'agrément obtenu pour les OGM, indiquant les niveaux de confinement requis.
- L'absence d'évaluation des risques *a priori* expose les personnels et peut conduire à une contamination.
- Quelques questions à se poser au moment d'évaluer un risque biologique :
- Quel agent biologique est en cause ?
 - Quels seraient les effets d'une contamination ?
 - Quelles sont les activités et quels gestes sont effectués ?
 - Quelles sont les voies de contamination ?
 - Qui est exposé ?

La réponse permettra de mettre en place les mesures de prévention adéquates. Elle intéresse aussi le médecin de prévention qui a besoin de connaître la nature de l'exposition des personnels pour assurer leur suivi médical.

Quel est le risque lié à la manipulation d'échantillons biologiques ?

La présence potentielle d'un pathogène dans certains échantillons biologiques, notamment humains, conduit à les manipuler en laboratoire de confinement biologique. L'analyse des risques doit tenir compte de la nature et de l'origine du prélèvement ainsi que des gestes effectués, afin de déterminer les éléments qui pourraient exposer les personnels à un risque biologique.

Peut-on utiliser son propre sang pour des manipulations ?

L'auto-prélèvement (utilisation de son propre sang) ou celui d'un collègue est à proscrire.

Dans le cadre des travaux de recherche, il existe plusieurs possibilités permettant d'obtenir du sang humain.

Le fournisseur privilégié est l'Établissement français du sang (EFS) avec lequel l'Inserm a signé une convention pour une utilisation non thérapeutique du sang.

On peut également contacter les services hospitaliers. Il faudra alors préciser les échantillons souhaités et déterminer les exclusions. En effet, en dehors des projets de recherche centrés sur l'étude d'un pathogène, il faudra exclure les échantillons issus de patients connus pour être porteurs de pathogènes.

Quelle est la conduite à tenir en cas d'accident avec du matériel biologique ?

Chaque laboratoire doit avoir à sa disposition la liste des conduites à tenir en cas d'accident, particulièrement en cas de contamination avec du matériel biologique d'origine humaine. On parle dans ce cas d'AES (accident exposant au sang ou à des produits biologiques humains). Il faut consulter rapidement un médecin référent qui mettra en place un suivi sérologique et décidera de l'opportunité d'un traitement anti-rétroviral.

Finalement, en quoi consiste la prévention du risque biologique ?

Les mesures de prévention sont le résultat de l'évaluation des risques. Elles comportent des mesures techniques (locaux de confinement, équipements de protection individuelle adaptés, bonne gestuelle), mais aussi un suivi médical qui permettra de vérifier la compatibilité de l'état de santé des agents avec leur exposition. ● **Christian Beyer**



© Inserm/Latron, Patrick

Culture de *mycobacterium smegmatis*, sauvage à gauche, mutée à droite en boîte de Petri sous PSM, en L2.

À NOTER

Il est rappelé que toute manipulation ou conservation d'échantillons humains nécessite des démarches réglementaires, instruites à l'Inserm par le pôle de Recherche clinique de l'institut Santé publique. Un document liste ces obligations réglementaires : www.rh.inserm.fr, rubriques **Mots clefs RH > Prévention des risques et médecine de prévention > Risque biologique.**