

Prévention  
en laboratoire  
de recherche

# Risques biologiques

Jacques Simons  
Philippe Sotty



INSERM



Institut Pasteur



**COLLECTION**



Prévention en laboratoire  
de recherche

# **Risques biologiques**



Prévention en laboratoire  
de recherche

# Risques biologiques

Jacques Simons  
Philippe Sotty



INSERM



Institut Pasteur

Éditions du CNRS  
15, quai Anatole France  
75700 Paris

Édition de l'INRA  
147, rue de l'Université  
75007 Paris

Éditions de l'INSERM  
101, rue de Tolbiac  
75654 Paris Cedex 13

© CNRS - INRA - INSERM, Paris, 1991  
ISBN CNRS : 2-222-04560-6  
ISBN INRA : 2-7380-0307-9  
ISBN INSERM : 2-85598-475-0

Toute reproduction, même partielle, de cet ouvrage est interdite. Une copie ou reproduction par quelque procédé que ce soit, photographie, microfilm, bande magnétique, disque ou autre, constitue une contre-façon passible des peines prévues par la loi du 11 mars 1957 sur la protection des droits d'auteurs.

*Imprimé en France*

## Remerciements

Les auteurs tiennent tout particulièrement à remercier les personnes dont les noms suivent, pour l'esprit de collaboration dont ils ont fait preuve dans le travail d'expertise qui leur était demandé. Par leur compétence et la qualité de leurs propositions, ils ont permis d'enrichir notablement ce document. Néanmoins, les textes publiés n'engagent que la responsabilité de leurs auteurs.

Mme ASTRUC (INSERM U 58), M. BARME (Institut Pasteur Paris), M. BRUN (INSERM Bureau de l'Équipement Immobilier), M. BUTTIN (Institut Pasteur Paris), M. CERF (INRA), M. CHIPPAUX (Institut Pasteur Paris), M. CORNILLON (INSERM U 300), M. CUZIN (Université de Nice, INSERM U 273), M. DAVID (Institut Pasteur Paris), M. GACHELIN (Institut Pasteur, Paris), M. GALIBERT (CNRS), M. GUENET (Institut Pasteur Paris), M. GUILLOT (Université de Tours, INRA), M. JORDAN (INSERM-CNRS, CIML), M. KAHN (INSERM U 129), M. KAZATCHKINE (CNRS), M. KOURILSKY (CNRS, INSERM, Institut Pasteur Paris), M. LEVY (ANRS, INSERM, ICGM), M. LUCCIANI (CNRS Marseille), M. MAHOY (INSERM Université de Paris), M. MARCHAL (Institut Pasteur Paris), M. MAUPILE (INSERM Bureau de l'Équipement Immobilier), M. MAURIN-BLANCHET (INSERM), M. MONTAGUTELLI (Institut Pasteur Paris), M. PETOUILLE (INSERM), Mme PILLOT-SIMON (INRA), M. PLOMMET (INRA), Mlle PRITCHARD (INSERM), M. PUGET (CNRS), M. ROLLIN (Institut Pasteur Paris), M. SABOURDY (CNRS), M. SUREAU (Institut Pasteur Paris), Groupe de Sécurité Biologique CNRS-INSERM Marseille.

Nous adressons également nos plus chaleureux remerciements aux personnes qui ont assuré avec compétence, patience et persévérance la dactylographie des différentes parties de cet ouvrage.



## Liste des auteurs

- ALLOING Sylvie  
Ingénieur Hygiène et Sécurité  
INSERM  
ADR Midi-Pyrénées  
CHU Purpan  
31052 Toulouse Cedex
- BRENDEL André  
Ingénieur Hygiène et Sécurité  
CNRS  
2, avenue Einstein  
BP 1335  
69609 Villeurbanne Cedex
- BRUN Anne  
Médecin Coordonnateur de la  
Médecine de Prévention  
INSERM  
101, rue de Tolbiac  
75013 Paris
- CHOQUET Roland  
Délégué National Prévention  
INRA  
147, rue de l'Université  
75341 Paris Cedex
- FASSNACHT Véronique  
Médecin de Prévention  
CNRS/INSERM  
ADR PACA  
31 chemin Joseph Aiguier  
13009 Marseille
- LERY Louis  
Médecin du Travail  
Institut Pasteur/HCL-Lyon  
Hôpital cardio-vasculaire et  
pneumologique Louis Pradel  
BP Lyon Montchat  
69394 Lyon Cedex 03
- LOCQUET Nathalie  
Délégué National  
Prévention adjoint  
INRA  
147, rue de l'Université  
75341 Paris Cedex
- MARTIN Gérard  
Ingénieur Hygiène et Sécurité  
Institut Pasteur  
25, rue du Docteur Roux  
75015 Paris

|                       |  |
|-----------------------|--|
| MICHAUD Gérard        | Ingénieur Hygiène et Sécurité<br>Institut Pasteur<br>25, rue du Docteur Roux<br>75015 Paris              |
| MOUSEL Marie-Laurence | Médecin du Travail<br>Institut Pasteur<br>25, rue du Docteur Roux<br>75015 Paris                         |
| PODCHLEBNIK Mireille  | Médecin de Prévention<br>INSERM<br>101, rue de Tolbiac<br>75013 Paris                                    |
| RICHARD Jacques       | Délégué Prévention<br>INRA<br>Centre de recherche de Tours<br>Domaine de l'Orfrasière<br>37380 Nouzilly  |
| SIMONS Jacques        | Ingénieur Hygiène et Sécurité<br>INSERM<br>101, rue de Tolbiac<br>75013 Paris                            |
| SOBANN Monique        | Médecin de Prévention<br>INSERM<br>101, rue de Tolbiac<br>75013 Paris                                    |
| SOTTY Philippe        | Responsable du Bureau Hygiène<br>et Sécurité<br>INSERM<br>ADR PACA<br>BP 172<br>13276 Marseille Cedex 09 |
| TEISSIER Claude       | Inspecteur d'Hygiène et<br>de Sécurité-CNRS<br>23, rue du Loess<br>BP 20<br>67037 Strasbourg Cedex       |

*Illustrations* : Jean-Pierre TERNAUX

*Conseils d'édition* : Suzy Mouchet, Mission information et communication,  
bureau de l'édition, INSERM

*Maquette de couverture* : Bertrand WILLOT, Coopérative de création

## Préface

Lorsqu'on évoque de nos jours la notion de « risques biologiques », on pense d'abord, médias aidant, aux « manipulations génétiques » et à leurs effets délétères éventuels sur l'évolution de l'homme et de son environnement. En tant que responsables de grands organismes de recherche, nous ne pouvons ignorer cet aspect des choses : il importe à l'évidence que toutes précautions soient prises pour éviter qu'on ne joue, dans nos laboratoires, les apprentis-sorciers vis-à-vis du devenir de la société. Mais notre responsabilité porte aussi – et peut-être plus impérativement encore – sur ce qui se passe au sein même de nos laboratoires, ces lieux où les personnels de la recherche sont directement au contact de phénomènes par essence inconnus et donc assortis de risques pour partie imprévisibles.

L'un des objets majeurs de cet ouvrage est, précisément, de faire le point sur la nature et l'intensité concevable de ces risques potentiels, et, dans l'état d'incertitude où nous demeurons à leur égard, d'énoncer des règles, de prôner des pratiques susceptibles d'en limiter ou même en pratique d'en annuler les effets imaginables. L'ensemble des risques liés aux techniques les plus récentes de la biologie est ainsi passé au crible dans cet esprit.

Cette approche ne dispense pas, toutefois, d'une accentuation de la surveillance des facteurs de risque plus classiques, comme, par exemple, les risques infectieux, ni d'une réflexion sur l'éveil et le maintien de la vigilance des personnels des laboratoires vis-à-vis d'eux.

Au moment où se négocient des normes européennes en matière d'hygiène et de sécurité, il était important que quelques uns des établissements de recherche français les plus concernés par la biologie décident de confronter leurs expériences et de mettre en commun leurs compétences pour traiter de ces problèmes. Nous ne pouvons qu'exprimer notre reconnaissance et nos félicitations pour le remarquable travail coopératif qui a été accompli en quelques mois pour rédiger cet ouvrage et en contrôler la qualité. Qu'auteurs et experts trouvent ici l'expression de nos vifs remerciements. Quant aux lecteurs, dont nous sommes certains qu'ils seront nombreux et attentifs, nous leur demandons, comme il est de tradition pour la première édition d'un ouvrage, de ne pas manquer de faire part à ses auteurs de leurs remarques : elles contribueront au perfectionnement des éditions ultérieures et par là même à une prise de conscience que nous souhaitons de plus en plus intense de l'importance des problèmes traités et de la possibilité concrète d'y faire face.

François KOURILSKY  
*Directeur Général du CNRS*

Philippe LAZAR  
*Directeur Général de l'INSERM*

Pierre DOUZOU  
*Président de l'INRA*

Maxime SCHWARTZ  
*Directeur de l'Institut Pasteur*



# Sommaire

|  |    |
|--|----|
| <b>1. Introduction (J. SIMONS)</b> .....   | 11 |
| Définition des risques biologiques .....   | 12 |
| Structures concernées et personnels exposés.....   | 12 |
| Considérations sur des risques potentiels<br>liés aux nouvelles technologies.....                      | 13 |
| Conclusions.....   | 15 |
| <b>2. Pathologies acquises en laboratoire (M. PODCHLEBNIK,<br/>M. SOBANN)</b> .....                    | 17 |
| Les infections les plus fréquentes .....   | 18 |
| La contamination.....  | 22 |
| Les voies et modes de contamination .....  | 23 |
| Les sources de contamination .....   | 24 |
| Les cas particuliers .....   | 25 |
| Les hépatites virales .....  | 25 |
| Le SIDA .....  | 28 |
| <b>3. Estimation des risques biologiques. Classification des agents<br/>pathogènes (A. BRUN)</b> ..... | 37 |
| Risques liés aux microorganismes .....   | 38 |
| Evaluation du risque de biocontamination .....   | 38 |
| Classification .....   | 39 |
| Le niveau de risque .....  | 40 |
| Facteurs liés aux conditions d'utilisation de ces microorganismes .....                                | 41 |
| Exemples d'attribution de niveau de risque .....   | 42 |
| Bactéries .....  | 42 |
| Champignons – Parasites .....  | 46 |
| Virus .....  | 47 |
| Classification des agents pathogènes .....   | 52 |
| <b>4. Localisation des risques biologiques (M.L. MOUSEL)</b> .....                                     | 63 |
| Risques dans un laboratoire classique de bactériologie .....   | 64 |
| Les différentes séquences d'une manipulation classique .....   | 64 |
| Autres cas .....   | 66 |
| Risques dans les laboratoires non formés à la microbiologie .....                                      | 66 |
| Risques biologiques en expérimentation animale .....   | 67 |
| Risques liés aux cultures cellulaires .....  | 68 |
| Types de cultures de cellules .....  | 69 |
| Risques communs aux cultures primaires et<br>aux lignées permanentes .....                             | 70 |
| Risques propres aux cultures primaires .....   | 72 |
| Risques propres aux lignées cellulaires .....  | 73 |
| Conclusions .....  | 74 |

|   |     |
|---|-----|
| <b>5. Description des niveaux de sécurité (S. ALLOING, G. MICHAUD, P. SOTTY)</b> .....                                | 75  |
| Niveau de sécurité biologique 1 (NSB 1) .....   | 76  |
| Niveau de sécurité biologique 2 (NSB 2) .....   | 78  |
| Niveau de sécurité biologique 3 (NSB 3) .....   | 82  |
| Niveau de sécurité biologique 4 (NSB 4) .....   | 86  |
| Tableau récapitulatif des différents niveaux de sécurité .....  | 89  |
| Comment se protéger des aérosols .....  | 90  |
| Les cytomètres en flux .....  | 91  |
| Annexe 1 .....  | 92  |
| Annexe 2 .....  | 93  |
| <br>  |     |
| <b>6. Hottes à flux laminaire et postes de sécurité microbiologique (PSM) (G. MARTIN, G. MICHAUD, P. SOTTY)</b> ..... | 95  |
| Introduction .....  | 96  |
| Définitions .....   | 97  |
| Les différents types d'enceintes .....  | 97  |
| Enceintes assurant la protection de la manipulation .....   | 98  |
| Enceintes assurant la protection de la manipulation, du manipulateur et de l'environnement .....                      | 99  |
| Enceintes assurant la protection du manipulateur et de l'environnement .....  | 101 |
| Recommandations concernant les postes de sécurité microbiologique (PSM) .....   | 102 |
| Désignation et marquage .....   | 103 |
| Guide de choix théorique .....  | 105 |
| Utilisation des postes de sécurité microbiologique .....  | 106 |
| Contrôles .....   | 110 |
| Contrôles des enceintes à flux laminaire .....  | 111 |
| Recommandations pour le remplacement des filtres des postes de sécurité microbiologique .....                         | 114 |
| Autres informations .....   | 115 |
| Principales caractéristiques des enceintes à circuit d'air ouvert .....   | 116 |
| <br>  |     |
| <b>7. Mesures à mettre en place dans l'animalerie (C. TEISSIER)</b> .....   | 119 |
| Introduction .....  | 120 |
| Généralités .....   | 120 |
| Mesures de sécurité à appliquer dans les unités animales .....  | 126 |
| Mesures de base (niveau de sécurité minimal) .....  | 126 |
| Niveau de sécurité 2 .....  | 127 |
| Niveau de sécurité 3 .....  | 128 |
| Niveau de sécurité 4 .....  | 129 |
| Recommandations générales .....   | 131 |
| Informations .....  | 131 |
| Formation .....   | 132 |
| Prévention .....  | 133 |
| <br>  |     |
| <b>8. Les procédés de désinfection (A. BRENDEL)</b> .....   | 135 |
| Définitions .....   | 136 |
| Désinfection de l'air .....   | 136 |

|   |            |
|---|------------|
| Désinfection des locaux .....   | 139        |
| Propriétés de quelques désinfectants des locaux .....   | 140        |
| Désinfection des surfaces par voie aérienne .....   | 142        |
| Conclusions sur les désinfectants chimiques utilisés pour<br>la désinfection des locaux .....                             | 143        |
| Procédés de nettoyage des locaux .....  | 143        |
| Stérilisation des produits biologiques et des cultures microbiennes<br>ainsi que des instruments les ayant contenus ..... | 144        |
| Chaleur sèche .....   | 144        |
| Chaleur humide .....  | 145        |
| Fours à micro-ondes .....   | 145        |
| Indicateurs de stérilisation .....  | 146        |
| Stérilisation à vapeurs bactéricides .....  | 146        |
| Produits chimiques liquides .....   | 146        |
| Décontamination du matériel .....   | 146        |
| Désinfection du linge de laboratoire .....  | 147        |
| Précautions contre les contaminations transmises par les mains .....  | 147        |
| Lavage simple des mains .....   | 148        |
| Lavage approfondi ou lavage chirurgical .....   | 148        |
| Mesures de prévention dans les laboratoires de biologie .....   | 149        |
| Élimination des déchets .....   | 149        |
| Aiguilles, seringues .....  | 150        |
| Matériel contaminé réutilisable .....   | 150        |
| Matériel contaminé à éliminer .....   | 150        |
| <b>9. Conduite à tenir en cas d'urgence (L. LERY) .....</b>   | <b>153</b> |
| Mesures générales .....   | 155        |
| Mesures spécifiques .....   | 156        |
| Cas du SIDA et des hépatites .....  | 157        |
| Blessé anti-VIH négatif .....   | 157        |
| Blessé séropositif .....  | 158        |
| <b>10. Aspects médicaux (A. BRUN, V. FASSNACHT, L. LERY) .....</b>  | <b>161</b> |
| Rôle du médecin de prévention .....   | 162        |
| Vaccinations .....  | 163        |
| Vaccinations indispensables .....   | 163        |
| Vaccinations nécessaires .....  | 164        |
| Vaccinations liées aux missions à l'étranger .....  | 166        |
| Vaccinations spéciales .....  | 167        |
| Autres moyens biologiques de prévention .....   | 167        |
| Cas particuliers des femmes enceintes et des femmes<br>en état de procréer .....  | 168        |
| Mode de contamination fœtale .....  | 168        |
| Agents infectieux .....   | 168        |
| Rôle du médecin de prévention .....   | 171        |
| Maladies professionnelles .....   | 171        |
| <b>11. Aspects réglementaires (R. CHOQUET, N. LOCQUET) .....</b>  | <b>175</b> |
| Documents de base – Recommandations .....   | 176        |
| Commissions .....   | 177        |
| Normes AFNOR .....  | 177        |

|   |            |
|---|------------|
| Directives de la CEE .....  | 178        |
| Règles et réglementations particulières .....                                 | 178        |
| Annexe 1 .....  | 179        |
| Annexe 2 .....  | 181        |
| Annexe 3 .....  | 182        |
| <b>12. La formation des personnels (S. ALLOING, P. SOTTY) .....</b>           | <b>217</b> |
| Les objectifs .....   | 218        |
| Exemples d'actions de sensibilisation, d'information<br>et de formation ..... | 219        |
| Moyens pédagogiques .....   | 221        |
| <b>Glossaire - Abréviations (J. RICHARD, J. SIMONS) .....</b>                 | <b>223</b> |
| <b>Index alphabétique .....</b>   | <b>241</b> |

CHAPITRE

---

# 1

---

## Introduction

J. SIMONS



## DÉFINITION DES RISQUES BIOLOGIQUES

Pourquoi avoir intitulé cet ouvrage « Les risques biologiques » et non « Le risque biologique » ? Bien plus qu'une question d'orthographe, ce choix marque une volonté d'opérer une distinction de fond.

Le risque biologique symbolise la finalité et les vicissitudes de tout être vivant placé en équilibre instable permanent dans son environnement. Il est l'expression d'un phénomène plus beau et plus exaltant, la vie, et est, par définition, *inévitabile*.

Les risques ou les dangers biologiques, eux, sont le fruit ou la conséquence de l'activité humaine. Néanmoins, ils empruntent les vecteurs du risque biologique et ne sont donc pas totalement éliminables. En plus des vecteurs, ils possèdent d'autres caractéristiques qui leurs sont propres. Ainsi :

- à la différence des risques chimiques et physiques, les risques biologiques sont difficiles à évaluer précisément ;
- quelle que soit la problématique expérimentale, ces risques sont, en l'état actuel de nos connaissances, toujours rapportables aux agents biologiques utilisés.

Si le développement rapide et intense du génie génétique et de la biologie moléculaire ne semble pas pour l'instant engendrer de risques biologiques propres, il n'en est pas de même pour la biologie cellulaire. Cela ne signifie pas pour autant qu'il en sera toujours ainsi, ni qu'ils n'existent pas déjà et que l'absence de leur manifestation soit à mettre au crédit de la jeunesse des disciplines concernées. Il est très important, dans l'estimation des risques soulevés par une expérimentation, de faire clairement la différence entre deux types de risques biologiques :

- les risques objectifs : plus ou moins bien connus et probables,
- les risques potentiels : connus et inconnus, de probabilité très faible mais non nulle.

Aux difficultés d'estimation des risques biologiques s'associe, de moins en moins fréquemment heureusement, une attitude psychologique définie par C. Dejours\* comme illustrant une certaine « idéologie défensive du métier » ou de la spécialité. Celle-ci se traduit par une « mystification » de l'activité de recherche, la parant de qualités « aventureuses ». Cette idéologie a permis néanmoins le développement de « savoir-faire de prudence », selon l'expression du même auteur, qui ont bien vite montré leurs limites d'efficacité.

## STRUCTURES CONCERNÉES ET PERSONNELS EXPOSÉS

*Structures concernées* Tous les établissements d'activité à caractère scientifique et plus particulièrement de recherche qu'elle soit fondamentale ou appli-

\* Dejours Ch., Veil C., Wisner A. Psychologie du travail. Publié avec le concours du CNRS, Paris, Entreprise moderne d'Édition, 1985.