

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. MAHOUY (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 Institut Pasteur 25, rue du Docteur Roux 75015 Paris
MOUSEL Marie-Laurence	Médecin du Travail Institut Pasteur 25, rue du Docteur Roux 75015 Paris
PODCHLEBNIK Mireille	Médecin de Prévention INSERM 101, rue de Tolbiac 75013 Paris
RICHARD Jacques	Délégué Prévention INRA Centre de recherche de Tours Domaine de l'Orfrasière 37380 Nouzilly
SIMONS Jacques	Ingénieur Hygiène et Sécurité INSERM 101, rue de Tolbiac 75013 Paris
SOBANN Monique	Médecin de Prévention INSERM 101, rue de Tolbiac 75013 Paris
SOTTY Philippe	Responsable du Bureau Hygiène et Sécurité INSERM ADR PACA BP 172 13276 Marseille Cedex 09
TEISSIER Claude	Inspecteur d'Hygiène et de Sécurité-CNRS 23, rue du Loess BP 20 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 liés aux nouvelles technologies.....	13
Conclusions.....	15
<b>2. Pathologies acquises en laboratoire (M. PODCHLEBNIK, 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 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 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
<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
<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
<b>8. Les procédés de désinfection (A. BRENDÉL)</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 la désinfection des locaux .....	143
Procédés de nettoyage des locaux .....	143
Stérilisation des produits biologiques et des cultures microbiennes 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 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 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.