

Les risques biologiques : évolution et prévention

Journées de l'ADHYS (Association pour le développement de l'hygiène et de la sécurité dans les établissements de recherche ou d'enseignement supérieur)

Paris, 31 mars et 1^{er} avril 2011

Ces journées ont réuni une centaine de personnes, ingénieurs, médecins autour de communications portant sur la réglementation en vigueur, l'évaluation du risque biologique, la prévention technique collective et la surveillance médicale. Sont rapportées ici les communications intéressant plus particulièrement les médecins du travail et les médecins de prévention en charge de laboratoires.

Réglementation

L'historique de la réglementation sur le risque biologique a été rappelé par **M.L. Mousel**, médecin du travail à l'Institut Pasteur à Paris. Le risque biologique est un risque ancien et redouté, connu depuis le 18^e siècle. En termes professionnels, une réflexion n'apparaît qu'à partir des années 70 ; la prise de conscience du corps médical lui-même est tardive, « retardée par fatalisme et romantisme ».

Les premiers textes sont des directives européennes portant sur trois thèmes : amélioration de la santé des travailleurs, manipulation d'organismes génétiquement modifiés (OGM) et micro-organismes et toxines.

Différentes étapes ont abouti à une réglementation française complexe parce que concernant trois codes : Code du travail, Code de l'environnement et Code de la santé publique.

Le décret n° 94-352 du 4 mai 1994 relatif à la protection des travailleurs contre les risques résultant de leur exposition à des agents biologiques, le seul à prendre en compte l'exposition des salariés, a été introduit dans le Code du travail (article L. 4421-1 et R. 4421-1 à R. 4427-5) et trois arrêtés ont été publiés : celui du 18 juillet 1994 modifié deux fois jusqu'en 1998 fixant la liste des agents biologiques pathogènes, celui du 13 août 1996 abrogé par celui du 16 juillet 2007 fixant

les mesures de prévention collective et notamment les niveaux de confinement à mettre en œuvre dans les laboratoires et celui du 4 novembre 2002 fixant les procédures de décontamination et de désinfection à mettre en œuvre pour la protection des travailleurs dans les lieux où ils sont susceptibles d'être en contact avec des agents biologiques pathogènes pouvant être présents chez des animaux vivants ou morts.

Les premiers textes datant de la fin des années 80 concernant les OGM (loi n° 92-654 sur les OGM) ont été abrogés par la loi n° 2008-595 du 25 juin 2008 sur les OGM, elle-même complétée par les décrets n° 2008-1273 du 5 décembre 2008 relatif au Haut conseil des biotechnologies et n° 2009-45 du 13 janvier 2009 relatif à l'étiquetage des organismes génétiquement modifiés mis à disposition de tiers à l'occasion d'une utilisation confinée. L'ensemble de ces textes a été transcrit dans le Code de l'environnement. Deux autres décrets relatifs à l'utilisation des OGM sont en attente.

Enfin, les différents textes concernant les micro-organismes et les toxines sont repris dans le Code de la santé publique.

P. Sylvestre, Institut Pasteur, a repris les dispositions réglementaires relatives à l'utilisation de certains micro-organismes et toxines (MOT).

À la suite des attaques terroristes de septembre 2001 aux États-Unis, la réglementation française a instauré un régime d'autorisation applicable à toutes

V. CARON^{*},
C. DAVID^{**},
S. MUNCH^{***},

^{*} Département Études et assistance médicales, INRS

^{**} Département Expertise et conseil techniques, INRS

^{***} Centre national de la recherche scientifique (CNRS), Strasbourg



Documents pour le Médecin du Travail
N° 127
3^e trimestre 2011

les opérations relatives aux produits contenant des micro-organismes hautement pathogènes pour l'homme et aux toxines, visant à empêcher la dissémination involontaire de ces agents.

Cette réglementation a été modifiée plusieurs fois jusqu'en 2010. L'objectif de ces nouvelles dispositions réglementaires est, entre autres, de permettre la mise en œuvre sécurisée des MOT sur des sites répertoriés, d'identifier les personnes physiques qui détiennent, mettent en œuvre et échangent des MOT et d'assurer la traçabilité de ces échanges.

La réglementation concernant ces micro-organismes a été reprise dans le Code de la santé publique dans les articles L. 5139-1 à 3. L'arrêté du 30 juin 2010 liste les

micro-organismes et toxines pathogènes concernés dans deux annexes :

- « les micro-organismes et toxines hautement pathogènes, présentant les risques les plus élevés pour la santé publique » (annexe I) (**encadré 1**) ;

- « les organismes génétiquement modifiés issus ou intégrant des micro-organismes mentionnés dans l'annexe I » (1^{er} alinéa de l'annexe II) (**encadré 2**) ;

- « les micro-organismes et les toxines désignés dans l'annexe II, ainsi que les organismes génétiquement modifiés renfermant des séquences d'acides nucléiques de ces micro-organismes ou renfermant des séquences d'acides nucléiques codant une des toxines mentionnées ou une sous-unité de l'une de ces toxines » (2^e alinéa de l'annexe II) (**encadré 2**).

Toute opération de production, fabrication, transport, importation, exportation, détention, cession, acquisition ou emploi comportant l'utilisation de MOT doit faire l'objet d'une demande d'autorisation auprès de l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (AFSSAPS).

ENCADRÉ 1

Annexe I de l'arrêté du 30 juin 2010, fixant la liste des micro-organismes et toxines prévues à l'article L. 5139-1 du Code de la santé publique

a) Les bactéries :

Enterobacteriaceae :

— *Yersinia pestis*.

Mycobacteriaceae :

— *Mycobacterium tuberculosis* ultra-résistante (on entend par ultra-résistante une bactérie polypharmacorésistante à l'isoniazide, à la rifampicine, à n'importe quelle fluoroquinolone et à la capréomycine ou la kanamycine ou l'amikacine).

b) Les virus :

Arenaviridae :

— virus Lassa ;

— virus Machupo ;

— virus Sabia.

Bunyaviridae :

Hantavirus :

— virus Andes.

Nairovirus :

— virus de la fièvre hémorragique de Crimée/Congo.

Filoviridae :

— virus Ebola ;

— virus Marburg.

Paramyxoviridae :

— virus Hendra ;

— virus Nipah.

Poxviridae :

— virus de la variole ;

— virus de l'orthopoxvirose simienne.

Coronaviridae :

— coronavirus responsable du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS).

Évaluation du risque biologique

C. Bleux, membre du Haut conseil des biotechnologies, a rappelé la mise en place et le rôle de cette institution. En 1990, deux directives européennes concernant l'utilisation et la dissémination des OGM ont été promulguées. Leur transcription en droit français (loi n° 92-654 du 13 juillet 1992) conduit à la création de deux commissions : la Commission de génie génétique (CGG) concernant une utilisation délibérée mais confinée d'OGM et dont la dissémination serait involontaire, et la Commission de génie biologique (CGB) concernant une utilisation où la dissémination est la raison même de la fabrication des OGM.

Dans les suites du Grenelle de l'environnement, ces deux commissions ont été remplacées par le Haut conseil des biotechnologies (HCB). Celui-ci est placé sous la tutelle de cinq ministères et regroupe les fonctions des anciennes CGG et CGB. Il est divisé en deux comités, un comité scientifique composé de 35 membres, scientifiques pour la plupart, et un comité économique, éthique et social composé de 26 membres en majorité issus de la société civile. Les missions du HCB sont nombreuses : expertise, alerte, avis en terme de risques pour l'environnement et avis sur les demandes d'autorisation dont étaient chargées les deux commissions précédentes (CGG et CGB). En ce qui concerne l'utilisation délibérée en milieu confiné, seule le comité scientifique rend un avis. Le rapport d'activité annuel du HCB est rendu public.

Annexe II de l'arrêté du 30 juin 2010 fixant la liste des micro-organismes et toxines prévues à l'article L. 5139-I du Code de la santé publique

Cette annexe comprend :

- les organismes génétiquement modifiés issus ou intégrant des éléments génétiques des micro-organismes mentionnés à l'annexe I ;
- les micro-organismes et toxines ci-après désignés ainsi que les organismes génétiquement modifiés renfermant des séquences d'acides nucléiques des micro-organismes ci-après désignés ou renfermant des séquences d'acides nucléiques codant une des toxines ci-après désignées ou une sous-unité de l'une de ces toxines :

a) Les bactéries :

Bacillaceae :

- *Bacillus anthracis*.

Brucellaceae :

- toutes les *Brucella*, à l'exception de *Brucella ovis*.

Burkholderiaceae :

- *Burkholderia mallei* ;
- *Burkholderia pseudomallei*.

Clostridiaceae :

- *Clostridium botulinum* ;
- *Clostridium perfringens*, types producteurs de la toxine epsilon.

Francisellaceae :

- *Francisella tularensis*.

Coxiellaceae :

- *Coxiella burnetii*.

Rickettsiaceae :

- *Rickettsia prowazekii* ;
- *Rickettsia rickettsii*.

b) Les virus :

Arenaviridae :

- virus Guanarito ;

- virus Junin ;
- virus Lujo ;
- virus Chapare ;
- virus Whitewater Arroyo.

Bunyaviridae :

Phlebovirus :

- virus de la fièvre de la vallée du Rift.

Hantavirus :

- virus Sin Nombre ;
- virus Hantaan ;
- virus Seoul ;
- virus Laguna Negra ;
- virus Dobrava-Belgrade ;
- virus Choclo.

Flaviviridae :

- virus de la maladie de la forêt de Kyasanur ;
- virus de la fièvre hémorragique d'Omsk.

Orthomyxoviridae :

- virus de grippe aviaire responsables d'infection humaine de type A et sous-type H5 ;
- virus de grippe aviaire responsables d'infection humaine de type A et sous-type H7.

Picornaviridae :

- virus poliomyélique.

c) Les toxines :

- la ricine ;
- l'entérotoxine B du *Staphylococcus aureus*, pour toute détention d'une quantité supérieure à 1 mg pour un même établissement ;
- les saxitoxines, pour toute détention d'une quantité supérieure à 1 mg pour un même établissement ;
- les toxines botuliques ;
- la toxine epsilon de *Clostridium perfringens*.

Depuis sa création, le comité scientifique a analysé plus de 1 000 dossiers.

B. Cornillon, Institut national de la santé et de la recherche médicale (INSERM), a rappelé les risques liés à la fabrication et à la manipulation d'OGM.

Après des rappels de biologie moléculaire sur la synthèse des protéines à partir de gènes et les éléments constitutifs de ces gènes, la communication a essentiellement porté sur la dangerosité potentielle des vecteurs viraux. Ceux-ci sont très utilisés car très efficaces. Les plus fréquemment utilisés, rétrovirus, adénovirus et lentivirus, sont défectifs (c'est-à-dire rendus moins dangereux par la délétion d'une partie de leur patrimoine génétique) et ne peuvent théoriquement pas se multiplier seuls. Néanmoins, il peut persister un risque lié soit à l'expression de la séquence génétique insérée (insert), soit à sa localisation dans le génome.

L'évaluation du risque lié à la manipulation des OGM peut se faire à partir de la connaissance des trois éléments nécessaires à leur construction : la séquence génétique à insérer, le vecteur viral transportant cette séquence et l'organisme receveur.

C. Fabin, Groupe d'étude sur le risque d'exposition des soignants aux agents infectieux (GERES), a fait un rappel épidémiologique des accidents de laboratoire (analyse et recherche) et dressé la liste des germes possiblement présents dans les laboratoires.

La plupart des accidents rapportés concerne les laboratoires d'analyses médicales. Certains gestes sont plus à risque comme la manipulation d'aiguilles, de collecteurs, le débouchage des tubes, la manipulation des boîtes de Petri, la réception et le tri des prélèvements. Le mode de transmission le plus courant en dehors des accidents d'exposition au sang et aux liquides

biologiques (AES) est l'inhalation d'aérosols (centrifugation, utilisation des vortex). En laboratoire de recherche, les principales activités identifiées sont le travail sur souche vivante et la mise au point de vaccins.

L'évaluation du risque se fait par la connaissance de l'activité du laboratoire, la description des dangers et la connaissance des stratégies de maîtrise des risques au sein du laboratoire (présence de poste de sécurité microbiologique, matériel non coupant).

Pour les situations d'exposition, il faut se référer à la chaîne de transmission, s'aider de la classification des micro-organismes, tenir compte des notions de dose infectieuse et des voies de pénétration.

À chaque mode de transmission (inhalation, ingestion, coupure...) doit correspondre un type de mesures adaptées.

Prévention collective

C. David, Institut national de recherche et de sécurité (INRS), a explicité les différents textes réglementaires concernant l'élimination des DASRI (Déchets d'activités de soins à risques infectieux) et assimilés ainsi que celle des pièces anatomiques.

Les DASRI doivent être éliminés selon des procédures strictes, afin de limiter l'exposition des salariés et de l'environnement. Ces déchets doivent être placés dans des emballages spécifiques, stockés sur des durées définies en fonction du volume de production. Ils sont ensuite incinérés en tant que DASRI ou prétraités par des appareils de désinfection, de telle manière qu'ils puissent être éliminés comme des déchets ménagers.

Les déchets contenant des agents biologiques pathogènes des groupes 3 et 4 doivent être autoclavés avant de suivre la filière d'élimination des DASRI. L'autoclavage des déchets (qui ne modifie pas l'apparence des DASRI) ne remplace en aucun cas le prétraitement par les appareils de prétraitement validés par le Haut conseil de Santé publique. Les détails de ces mesures sont repris dans la brochure ED 918 éditée par l'INRS.

À partir d'un exemple de manipulation d'un OGM, **J. Simon**, INSERM, a démontré l'intérêt d'intégrer l'évaluation du risque à chaque étape du protocole expérimental. Chaque étape doit être soigneusement détaillée (transfection, injection à l'hôte, culture de cellules transfectées...) avec, pour chacune, la présence éventuelle d'OGM, leur niveau de classement, de confinement et leur mode d'élimination en DASRI. Cette démarche permet d'intégrer la prévention à l'expérimentation, de définir en amont les besoins, d'aider à la décision et de planifier l'utilisation partagée des structures.

Surveillance médicale

« Comment appréhender le risque biologique en laboratoire de recherche au cabinet médical ? » reste une question pratique que **S. Munch**, médecin de prévention au CNRS, a présentée.

La Fiche individuelle des risques et conditions de travail (FIRCT) est un outil déclaratif, non réglementaire, versé au dossier médical des personnels. Elle a été actualisée en 2008 par un groupe de travail interorganismes de recherche et d'enseignement supérieur et adoptée et diffusée à ses membres par l'ADHYS. Son principal objectif est d'évaluer en première approche le risque individuel au poste de travail, afin d'orienter la surveillance médicale des personnes exposées. La FIRCT constitue une aide à la décision médicale selon le schéma suivant : risque professionnel – surveillance médicale – prescriptions d'examen complémentaires. Elle comporte des items en rapport avec les principales expositions professionnelles rencontrées dans le milieu de la recherche, regroupées par risques, dont le risque biologique. En suivant la trame proposée par la FIRCT, les divers risques potentiels sont passés en revue, depuis les risques de zoonoses et d'allergies liés au contact avec des animaux de laboratoire, jusqu'à l'apparition potentielle de pseudotypes viraux dans la manipulation de souris SCID*-hu (par échange de patrimoine génétique entre des virus murins et humains), sans omettre l'apparition éventuelle d'une symptomatologie « pseudo-grippale » lors de l'inhalation de certaines toxines.

Ce procédé d'évaluation des risques permet de mettre en avant la pluridisciplinarité témoignant de l'importance d'une étude de terrain afin d'appréhender au plus près la réalité du risque aux différentes étapes d'une manipulation. Par ailleurs, apparaissent indispensables une veille réglementaire ainsi qu'une régulière recherche d'informations bibliographiques.

* SCID : Severe
Combined
Immunodeficiency
= Immunodéficience
sévère combinée.