



IV. Risques biologiques

Introduction

La sécurité biologique consiste dans la mise en œuvre d'un certain nombre de principes, de techniques et de pratiques de confinement visant à prévenir le risque accidentel d'exposition du personnel à des agents pathogènes ou à des toxines, ou encore de libération de telles substances. La sûreté biologique, elle, consiste dans la mise en place d'un certain nombre de mesures d'ordre administratif et de gestion du personnel, en vue de réduire le risque de perte, de vol, d'utilisation à mauvais escient, de détournement ou de libération délibérée d'agents ou de toxines. Le véritable fondement de la sûreté biologique réside dans l'application en laboratoire des pratiques de sécurité biologique.

IV.1. Evaluation du risque biologique

Les risques biologiques sont difficiles à évaluer compte tenu du fait que les animaux capturés sur le terrain sont potentiellement infectés par divers parasites (nématodes, virus, bactéries...) et qu'on ne connaît pas a priori les risques pour l'homme. Quoiqu'il en soit, il est impératif de respecter certaines règles préventives.

IV.1.1. Prévention du risque biologique

- les équipements de protection doivent être obligatoirement utilisés afin de limiter les risques de transmission de maladie des animaux à l'homme. Ils comprennent : la blouse, les gants, les lunettes de protection et le masque.
- Manipulation dans un local adapté, isolé du reste du laboratoire. En effet, il est préférable que les prélèvements soient réalisés à l'extérieur du laboratoire de Biologie Moléculaire. Les déchets contaminés doivent être jetés dans des poubelles adaptées : boîtes-tirelires pour les aiguilles et objets coupants, incinérateur pour les déchets biologiques.

IV.1.2. Biosécurité

Les travaux de recherche qui impliquant la manipulation de matériel biologique peuvent présenter un risque d'infection ou de contamination pour l'individu, mais également pour la communauté et l'environnement. L'utilisation de matières infectieuses nécessite la mise en place de plusieurs mesures de contrôle, tels des règlements, des méthodes de travail sécuritaires et des équipements spécialisés. Ces mesures visent à assurer une protection contre les agents pathogènes, les toxines et les animaux infectés.

IV.1.3. Matières infectieuses

Les matières infectieuses sont catégorisées selon quatre groupes de risque qui dépendent de leurs propriétés toxicologiques sur l'individu et la communauté, et ce, dans un contexte de manipulation en laboratoire. Parmi les facteurs de risque, on retrouve la pathogénicité, la dose infectieuse, le mode de transmission, la gamme d'hôtes, ainsi que la disponibilité de mesures préventives efficaces et de traitements efficaces. Elles peuvent pénétrer l'organisme par quatre voies :

- Inhalation sous forme d'aérosol (voie d'infection la plus importante)
- Absorption cutanée ou oculaire
- Ingestion
- Injection (accidentelle) provenant de piqûres d'aiguilles ou d'objets tranchants souillés

Contrairement aux risques chimiques, où l'effet d'un produit dépend généralement de la dose, une faible quantité de matériel biologique peut se multiplier dans l'hôte et avoir des effets néfastes pour celui-ci ou l'environnement.

IV.2. Pratiques sécuritaires en laboratoire

Tous les laboratoires impliquant des travaux de nature biologique doivent respecter les bonnes pratiques de base. En plus des principes mentionnés à la section. Les bonnes pratiques de laboratoire on peut ou doit inclure les suivantes :

Manipuler tous les fluides corporels et les produits sanguins comme s'ils étaient infectieux. Il ne faut jamais minimiser le danger.

- Ne jamais pipeter par la bouche.

- Protéger à l'aide d'un pansement étanche les blessures ouvertes, égratignures et autres.
- Les vêtements contaminés doivent être décontaminés.
- Limiter l'utilisation d'objets tranchants ou piquants.
- Les surfaces de travail, le matériel et les équipements doivent être décontaminés avant d'être lavés, et ce, après chaque journée de travail.

IV.2.1. Décontamination

La décontamination du matériel, de l'équipement et des aires de travail du laboratoire permettent de contrôler la libération accidentelle d'un agent pathogène dans la communauté ou l'environnement, mais également ses utilisateurs. Il est essentiel d'utiliser des moyens de décontamination efficace avant d'éliminer ou de réutiliser le matériel. Cela peut se faire par stérilisation (autoclave) ou désinfection.

IV.2.2. Gestion des déchets biologiques, cytotoxiques et pharmaceutiques

L'élimination des déchets biologiques, cytotoxiques et pharmaceutiques est soumise à des règles de manière hebdomadaire ou à la demande durant les périodes où le niveau d'activité est réduit. Ces déchets sont généralement pris en charge par une entreprise spécialisée. Aucun recyclage n'est possible et ils sont soit incinérés ou désinfectés par autoclave et enfouis.

Les **déchets anatomiques d'animaux** sont éliminés congelés dans des contenants spécifiques (boîtes ou barils de fibres avec deux sacs de plastique), bien identifiés et portant la mention Incinerate.

- ✚ Les **liquides de préservation pour animaux**, vertébrés et invertébrés, doivent être séparés des spécimens en les récupérant dans un contenant identifié et portant la description du préservatif du fournisseur et en s'assurant d'une FDS disponible; ces fluides seront traités comme des résidus chimiques. Les spécimens animaux, vertébrés et invertébrés, sans leurs liquides préservatifs, seront traités comme des déchets anatomiques animaux.
- ✚ Les **déchets non anatomiques** (objet piquant, tranchant, souillé; tissus biologiques, cultures cellulaires ou matériel ayant été en contact avec ses derniers; vaccin de souche vivante; sang ou matériel imbibé) sont éliminés dans des contenants spéciaux,

selon le cas (bac de plastique, boîte de carton); ils seront décontaminés à l'autoclave et enfouis ou incinérés. Les déchets liquides pouvant être décontaminés chimiquement ou thermiquement et qui n'ont plus de catégories de danger peuvent être disposés dans l'environnement.

- Les **déchets non anatomiques provenant du secteur enseignement de la microbiologie** (gélose, milieu de culture) doivent être stérilisés à l'autoclave et sont disposés au site d'enfouissement local; un registre avec la date, la description et le poids doit être tenu aux fins de compilation statistique et répondre à une exigence réglementaire.
- Les déchets **pharmaceutiques** comprennent les résidus de médicaments (non toxiques, toxiques et **cytotoxiques**), des produits servant à la préparation ou à l'administration des médicaments, ainsi que de certains produits dangereux. Les contenants qui renferment ou ont été mis en contact avec un produit pharmaceutique entrent dans cette catégorie. Ces produits doivent être identifiés par une étiquette visible, comme celle-ci sur le contenant.
- Les **drogues contrôlées** périmées ou rebutées (ex. narcotiques) sont aussi des produits pharmaceutiques qui doivent être tenues dans un registre avec leurs volumes résiduels et maintenues sous clés jusqu'à leurs prises en charge. Ils seront incinérés à haute température.

Les **déchets cytotoxiques** sont les médicaments périmés ou à rebouter ainsi que leurs contenants qui ont le rôle d'inhiber ou d'empêcher le bon fonctionnement des cellules. On les utilise surtout pour traiter le cancer, souvent dans le cadre d'une chimiothérapie. Ces médicaments traitent parfois des maladies spécifiques. Ces médicaments sont utilisés sur des animaux ou des milieux de culture. Ils seront incinérés à haute température et doivent porter cette étiquette sur le contenant de réception.

IV.3. Agents biologiques et risques

Les travailleurs peuvent être exposés aux cinq types de risques liés aux agents biologiques. Le tableau définit ces types de risque et fournit les différents symptômes associés. Les agents biologiques pathogènes : les micro-organismes, y compris les micro-organismes

génétiquement modifiés, les cultures cellulaires et les endoparasites humains susceptibles de provoquer une infection, une allergie ou une intoxication.

Tableau.02. Types de risque liés aux Agents biologiques (CNRS. 2017)

Types de risques liés aux agents biologiques	Définition	Exemple de maladies et symptômes
Risques infectieux	Infections dues à l'intrusion et à la multiplication d'un agent biologique dans le corps. Il s'agit du risque le plus courant en milieu de travail.	Tuberculose Hépatite B Pneumonie Lésions cutanées Tétanos Aspergillose
Risque immuno-allergique	Réaction du système immunitaire face à un agent biologique (moisisseurs)	Rhinite Asthme Pneumopathie Réactions allergiques diverses
Risques d'intoxication	Intoxication qui survient par exposition à une toxine issue d'un agent biologique (par ex. : <i>S. chartarum</i> (moississeur), <i>E. coli</i>)	Fièvre et courbatures Insuffisance respiratoire Réactions digestives (nausées, diarrhées)
Risque cancérogène	Tumeurs cancéreuses causées par la multiplication désordonnée de cellules lorsque l'agent biologique est en contact avec le corps (par ex : virus de l'hépatite B et C)	Cancers du foie Autres cancers
Risques d'infestation	Envahissement de l'organisme par des parasites (par ex. : gale, poux, punaises, puces)	Lésions cutanées Démangeaisons

IV.3.1. Classement des agents biologiques (micro-organismes naturels)

Une entité microbiologique, cellulaire ou non, capable de se reproduire ou de transférer du matériel génétique. Culture cellulaire : le résultat de la croissance *in vitro* de cellules isolées d'organismes multicellulaires. Ce classement concerne les bactéries, les virus, les parasites et les champignons. Ils sont répartis en quatre groupes suivant leur pathogénicité et l'existence ou non d'une prophylaxie ou d'un traitement efficace.

La connaissance des agents biologiques et de leur classement conditionne les règles de prévention, notamment les niveaux de sécurité biologique 2, 3 ou 4, requis pour leur manipulation. De plus, certains agents biologiques pathogènes sont associés (ou soupçonnés d'être associés) à la survenue de certains cancers. Ces agents ont été classés par le centre international de recherche sur le cancer (CIRC) en fonction de leur effet cancérogène chez l'homme.

IV.3.2. Cultures cellulaires

Le risque peut provenir des cellules mais également des techniques liées à leur culture (milieu, immortalisation, quantités utilisées...). Le risque présenté par les cultures primaires est très comparable à celui des échantillons biologiques : un exemple est le risque lié à la présence de microorganismes pathogènes contaminants. Le risque des lignées est celui d'une réimplantation accidentelle chez le manipulateur induisant ainsi le développement d'une tumeur.

IV.3.3. Organismes Génétiquement Modifiés (OGM)

Ce sont des organismes vivants dont le matériel génétique a été modifié d'une manière qui ne s'effectue pas naturellement par multiplication et/ou par recombinaison naturelle. Comme les agents biologiques naturels, les OGM sont classés en 4 groupes, en fonction des risques qu'ils présentent pour la santé publique ou pour l'environnement. Chaque groupe définit la classe de confinement (dans son guide de recommandations, le Haut Conseil des Biotechnologies utilise le terme « confinement » plutôt que « niveau de sécurité biologique ») dans laquelle l'OGM doit être manipulé. Les 4 classes de niveau de sécurité biologique (C1 à C4): La classe de confinement 1 est constituée des opérations mettant en œuvre des OGM du groupe I et dont le risque pour la santé humaine et pour l'environnement est nul ou négligeable. La classe de confinement 2 est constituée des opérations mettant en œuvre des OGM du groupe II et dont le risque pour la santé humaine et pour l'environnement est faible. La classe de confinement 3 est constituée des opérations mettant en œuvre des OGM du groupe III et dont le risque pour la santé humaine et pour l'environnement est modéré.

Evaluation du danger d'un OGM

L'évaluation du danger d'un OGM doit prendre en compte le danger de chacun des éléments du trinôme : organisme récepteur ou receveur ou hôte, vecteur, insert. Dans le cas où les niveaux de risque seraient différents entre receveur, vecteur et insert, le risque supérieur est retenu. Cependant, l'évaluation du danger conféré par une construction n'est pas nécessairement la simple juxtaposition des dangers présentés par ses constituants : l'association des trois éléments du trinôme peut en effet engendrer une majoration ou une minoration du danger.

Organisme receveur

Un organisme receveur non pathogène peut présenter un danger après l'introduction d'une séquence exogène. Exemples : la séquence exogène peut permettre l'expression d'une toxine, la séquence peut modifier les caractéristiques du receveur (augmentation de la prolifération ou de la survie dans l'environnement). Dans la majorité des cas, un organisme receveur qui est pathogène le reste. Vecteur Le danger des vecteurs viraux est représenté par leur éventuelle capacité : à s'intégrer dans le génome de la cellule hôte, à se recombiner avec des séquences de l'hôte, à être complémentés par des séquences présentes chez l'hôte.

 **Insert**

La séquence insérée, si elle ne présente pas de danger, est dite de catégorie A. Elle appartient à la catégorie B si elle peut être un facteur de danger : ADN codant pour une protéine biologiquement pathogène (toxine...), ADN issu d'un micro-organisme pathogène, ADN dont l'expression est directement liée au mécanisme d'immortalisation des cellules ou capable d'augmenter la capacité d'expression, d'intégration et/ou de réPLICATION du vecteur.

Références Bibliographiques

Boucher, M., Deguire, S., Giroux, D., Malo, S., & Fleury, N. (2002). Guide de santé et sécurité dans les laboratoires. (4e éd.). Montréal: Ordre des chimistes du Québec.

Leleu, J., & Triolet, J. (2002). Réactions chimiques dangereuses. (INRS) Institut national de recherche et de sécurité. Repéré à www.inrs.fr.

Documentation sous forme de polycopies concernant les risques et la sécurité dans les laboratoires de Biologie destinée aux chercheurs débutants. Editée par le CNRS, France, 2017.

OMS (2005). Manuel de sécurité biologique en laboratoire (3e éd.). Organisation mondiale de la santé. Repéré à www.who.int/fr/

Pharmabio Développement (2002). Guide de santé et de sécurité en laboratoire. Repéré à www.pharmabio.qc.ca

Santé Canada (2004). Lignes directrices en matière de biosécurité en laboratoire (3e éd.). Repéré à www.hc-sc.gc.ca/index-fra.php

Santé Canada (2012). Information à l'intention des professeurs d'arts – Sécurité des produits chimiques. Repéré à www.hc-sc.gc.ca/index-fra.php

Shematek, G., & Wood, W. (2012). La sécurité au laboratoire: directives de la SCSLM. (7e éd.). Hamilton: Société canadienne de science de laboratoire médical.