



Jean-Claude Ghnassia\*

# Biosécurité en biologie médicale

## RÉSUMÉ

La biosécurité constitue une composante de la prévention des risques encore aujourd'hui trop partiellement prise en compte dans de nombreux laboratoires. S'attachant à la prévention des biocontaminations, la biosécurité s'appuie sur plusieurs classements relatifs aux micro-organismes, aux agents biologiques, aux hottes et aux niveaux de sécurité. La mise en œuvre de la biosécurité et plus généralement de la prévention des risques en pratique quotidienne passe par la connaissance de plusieurs textes et arrêtés. Les bases réglementaires que les biologistes médicaux doivent connaître et appliquer sont présentées dans cet article. Cette réglementation peut être opposable dans les situations de conflit et il est vivement conseillé de la mettre en application lors de toutes les modifications de locaux et les créations de nouvelles structures destinées à l'exercice de la biologie médicale.

## MOTS-CLÉS

Biosécurité, biocontaminations, poste de sécurité microbiologique, prévention des risques, réglementation, certification et accréditation, biologie médicale.

## Biosafety in laboratory medicine

### SUMMARY :

Biosafety constitutes a component of risks prevention still too partially taken into account in many laboratories. Sticking to the prevention of biocontaminations, biosafety is based on several classifications relating to micro-organisms, biological agents, hoods and levels of safety. The implementation of biosafety and more generally of risks prevention in daily practice involves the knowledge of several texts and decrees. The European statutory base that the clinical laboratory professional has to know and apply are represented in this article. This regulation can be opposable and its application is strongly advised when premises are modified or new structures used for the exercise of clinical chemistry are created.

### KEYWORDS

biosafety, biocontaminations, microbiological safety cabinets, risks prevention, regulation, certification and accreditation, laboratory medicine.

## I – Introduction

Outre l'exercice de sa compétence médicale et scientifique, l'activité du biologiste médical, implique également un ensemble de connaissances techniques et logistiques nécessaires au fonctionnement satisfaisant du laboratoire. L'assurance qualité, qui s'installe progressivement, constitue un très bon exemple de « tremplin » utilisable pour faire le bilan des différentes obligations relatives à la sécurité. Avec la sécurité il faut ajouter l'hygiène et la santé des manipulateurs pour faire une mise à niveau des aspects réglementaires dans ce domaine.

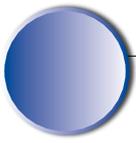
Et si l'on a comme objectif la mise en conformité du laboratoire, il est nécessaire de connaître et d'utiliser les différents textes et arrêtés publiés sur

le sujet. Sinon les représentants de la médecine du travail ne manqueront pas de rappeler les obligations de l'employeur ou la responsabilité du chef de service hospitalier partagée avec le directeur selon le GBEA.

La politique de sécurité passe par une identification et un classement des risques auxquels sont soumis les employés, c'est l'évaluation des risques. L'évaluation, qui découle de la directive cadre européenne du 12 juin 1989, relève de la responsabilité de l'employeur et doit être formalisée dans un document, le « document unique ».

La préoccupation vis-à-vis de la santé et de la sécurité des personnels se matérialise aussi dans le concept de biosécurité. La biosécurité est particulièrement focalisée sur la prévention des biocontaminations et se fonde sur l'utilisation de plusieurs

\*Biologiste médical Paris, Consultant Qualité – ABIOMED 7 – Tél. : 06 63 55 98 69 – Fax : 01 48 28 66 91  
E-Mail : gh25@wanadoo.fr



classements relatifs aux micro-organismes, aux agents biologiques, aux hottes et enfin aux niveaux de sécurité, variables selon les activités du laboratoire. Quelles que soient les techniques mises en œuvre, la prévention des risques en pratique quotidienne doit s'appuyer sur la connaissance des différents textes et arrêtés publiés sur le sujet. Il est également du devoir des responsables des laboratoires de faire observer ces règles lors de la construction des bâtiments destinés à recevoir les laboratoires. Ainsi, l'ensemble des obligations rendues opposables par le législateur devra être indiqué, au moment de la conception du projet d'aménagement, aux cabinets d'étude et d'architectes. En cas de conflit sur ces sujets, la décision finale sera prise par le médecin du travail.

La biosécurité et l'hygiène dans les laboratoires de biologie médicale ont fait l'objet de plusieurs études (1, 2) avec en point d'orgue la parution d'une norme internationale, la norme ISO 15190, ayant pour titre : *medical laboratories – requirements for safety* (en français, *Laboratoires de médecine-Exigences pour la sécurité*). Ce texte présente l'avantage d'être consensuel et de recouvrir une compétence internationale ; il se révèle utile lors de l'établissement du manuel qualité où la sécurité doit être prévue selon la norme 15190.

On peut observer que ce sujet est globalement insuffisamment pris en compte par les membres de la profession jusqu'au moment où survient un incident ou un accident qui perturbe l'activité quotidienne du laboratoire et peut conduire à sa suspension ou exceptionnellement à sa suppression. Cet article propose un descriptif de ce qu'il est important de savoir sur ce sujet ainsi que les dispositions réglementaires et les éventuelles décisions à caractère préventif à mettre en place. Compte-tenu de la législation et des obligations légales, la biosécurité peut être réalisée selon trois points développés dans les paragraphes qui suivent.

## II - Le document unique

Selon la directive cadre européenne du 12 juin 1989, les employeurs, comme par exemple les biologistes et les directeurs d'hôpitaux, font face à l'obligation de dresser une liste identifiant et classant les risques professionnels auxquels sont confrontés les salariés de leurs établissements. Les risques liés à l'activité quotidienne doivent être recensés et évalués. Qu'ils s'agissent de risques associés à la gestuelle, aux conditions de travail, aux locaux, aux produits ou à des techniques pouvant se révéler dangereuses pour le manipulateur ou constituer une hypothèque pour la santé et l'hygiène, tous ces éléments doivent faire l'objet d'un recensement minutieux. Une fois identifiés, ces risques doivent être classés, une opération qui pourra notamment être facilitée grâce à différents documents (3) et aides à la réalisation (voir par exemple les informations mises à disposition par l'Institut National de Recherche et de Sécurité

(INRS), sur son site Web, [www.inrs.fr](http://www.inrs.fr)). Cette démarche d'évaluation des risques professionnels (EvRP) doit être formalisée dans un document dit « document unique » défini par un texte législatif et un décret d'application (Décret N° 2001-1016 du 5/11/2001). Ce document unique comporte des obligations tant pour l'employé et que pour l'employeur qui : « transcrit et met à jour les résultats de l'évaluation des risques concernant la santé des travailleurs... » (4). Enfin, Ce document doit être mis à la disposition du personnel, du médecin du travail, de l'inspecteur du travail, des agents de la sécurité sociale et du CHSCT (comité d'hygiène et de sécurité et des conditions de travail) en place dans les entreprises comportant plus de 50 salariés. Rappelons aussi, que l'employeur et les employés ont une responsabilité affichée dans la mise en application réglementaire du texte qui englobe le classement des risques et la mise en place des actions de prévention. Une circulaire du 18 avril 2002 précise le cadre juridique de cette évaluation des risques professionnels. Il y a donc nécessité pour le biologiste de préparer cette évaluation, d'identifier puis de classer les risques et enfin de proposer les mesures de prévention. Des informations utiles sur cette démarche peuvent être consultées sur le site de l'INRS et sur le site du Ministère de l'emploi de la cohésion sociale et du logement (voir, [www.sante-securite.travail.gouv.fr/dossiers/evaluations.asp](http://www.sante-securite.travail.gouv.fr/dossiers/evaluations.asp)).

## III – La norme ISO 15190

Elle constitue une recommandation de caractère international destinée spécifiquement à la sécurité des laboratoires de biologie médicale. Admise récemment par l'ISO et publiée en octobre 2003, elle peut être prise en compte pour la délivrance d'une certification. En revanche, ainsi qu'il est spécifié en préambule de ce texte, hygiène et sécurité n'entrent pas dans le champ d'une accréditation en biologie médicale sauf si sa non application est en cause dans la réalisation d'une analyse comprise dans la portée de l'accréditation demandée. Cette norme comporte plusieurs chapitres portant spécifiquement sur : les postes de sécurité, la protection, les risques liés à l'utilisation de produits radioactifs, chimiques ainsi que les aspects conceptuels d'un laboratoire avec ses exigences de ventilation, de lumière et de stockage des produits. Les aspects personnels tels que l'habillement, le port de gants et la protection des yeux sont aussi décrits. Enfin, la norme ISO 15190 recommande également de mettre sur papier une description du fonctionnement normal du laboratoire et la désignation d'un « répondant » sécurité.

Cette norme est particulièrement utile pour aborder de façon exhaustive la question de la sécurité. Elle comporte, en effet, en plus des considérations générales trois annexes plus pratiques :

- le plan d'action cadre de sa mise en œuvre avec l'identification, l'évaluation et la hiérarchie des risques ;

### REMERCIEMENTS

Au Dr Chardon  
à M. Loiseau et  
Mme Hayeck,  
particulièrement  
intéressés par le sujet,  
pour leur soutien actif  
et efficace.

Tableau I

Principe de classement des micro-organismes selon le J.O. (\* risques infectieux limités).

<b>Classe 1</b>	Micro-organismes qui ne sont jamais responsables d'infections.	Exemples <i>Lactobacillus</i> , <i>E. coli</i> K12, <i>Saccharomyces cerevesiae</i> , bactéries lactiques de l'industrie agroalimentaire...
<b>Classe 2</b>	Micro-organismes qui peuvent provoquer des maladies chez l'homme, et constituer un danger pour le personnel mais pour lesquels la prophylaxie et des traitements sont connus.	Exemples <i>E. coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Plasmodium</i> , <i>Trichomonas vaginalis</i> , ainsi que des échantillons reçus pour analyse et susceptibles de contenir des virus VIH, des BK...
<b>Classe 3</b>	Micro-organismes qui constituent une menace pour la santé du personnel et un risque pour la population mais pour lesquels la prophylaxie et des traitements sont connus.	Exemples <i>Bacillus anthracis</i> , <i>Yersinia pestis</i> , antibiogramme de BK et suspensions de BK ainsi que cultures et suspensions de VIH, <i>Brucella</i> , <i>Salmonella typhi</i> * et <i>Shigella dysenteriae</i> , <i>Histoplasma</i> , agents non classiques associés avec les EST*...
<b>Classe 4</b>	Même définition qu'en classe 3 mais prophylaxie et traitements ne sont pas connus à ce jour.	Exemples Virus d'Ebola, virus de Marburg, Fièvres hémorragiques et autres viroses peu fréquentes des groupes Astroviridae et Flaviridae...

- un audit de sécurité avec des exemples pratiques de grilles de contrôle;

- une aide à l'élaboration des protocoles pour la décontamination, le nettoyage et la désinfection des équipements de laboratoire.

Il n'y a pas dans ces descriptions détaillées d'obligation réglementaire. C'est plutôt une suite de points de fonctionnement qu'il est conseillé d'instruire et de documenter dans un souci de prévention. On peut dire de cette norme qu'elle est présentée comme un guide pour tous les biologistes médicaux et qu'elle est indispensable pour ceux qui arrivent de la faculté où ils ont acquis une formation plus scientifique que gestionnaire

## IV - La biosécurité

La biosécurité est une notion relativement récente à laquelle sont associées plusieurs définitions proches les unes des autres mais impliquant des nuances directement liées aux conditions d'exercice et à la culture des scientifiques utilisant cette terminologie. Ainsi, dans le domaine des biotechnologies, pour les spécialistes du génie génétique et de la bioingénierie, la biosécurité concerne notamment la gestion environnementale relative à l'ensemble des produits issus des manipulations génétiques et aux organismes génétiquement modifiés (OGM). On notera d'ailleurs en effectuant une simple recherche sur Internet via un moteur de recherche que l'emploi du terme biosécurité est très majoritairement associé à la problématique des OGM. Mais, il y a aussi une autre définition du terme biosécurité (1) proche des préoccupations des biologistes médicaux, celle qui correspond au concept permettant de prévenir une biocontamination réalisée à partir de produits biologiques ou toxiques. La biosécurité et la biocontamination ont pour base plusieurs textes réglementaires.

### 1. Classement des micro-organismes

Selon l'arrêté du 18 juillet 1994 modifié le 30 juin 1998 les micro-organismes ont été classés sur des critères de pouvoir de virulence et de responsabilité dans diverses infections. Deux critères supplémentaires ont été pris en compte pour nuancer cette classification, l'existence d'une prévention efficace et de traitements connus (tableau I).

### 2. Les postes de sécurité microbiologique

Selon les cas, les microbes et quelques agents biologiques doivent être manipulés sous des enceintes particulières dénommées postes de sécurité microbiologique (PSM). Dans les PSM, il y a récupération puis filtration du flux d'air et de tous les microbrouillards et particules dégagés lors des manipulations. Ces systèmes sont équipés de filtres HEPA (Haute Efficacité pour les Particules Aériennes). Outre leur rôle de filtration, les filtres HEPA participent au maintien de la linéarité du flux laminaire indispensable à une efficacité du système. Le maintien de cette efficacité implique également une maintenance régulière de l'enceinte avec une vérification semestrielle ou annuelle du bon fonctionnement de l'enceinte. On décrit actuellement trois types de PSM différents (tableau II, page suivante).

Dans les PSM de type I il y a aspiration de l'air du local où se trouve l'enceinte et passage sur le plan de travail puis sortie, le plus souvent, dans la pièce ou à l'extérieur après filtration. La protection de l'échantillon est très faible et il faut un débit suffisant pour aspirer aussi les aérosols et microparticules produits lors de manipulations.

Les PSM de type II sont beaucoup plus performants, ils comportent deux filtres HEPA pour l'air de sortie et aussi pour une partie de l'air qui est recyclé à l'intérieur de l'enceinte. Cette solution



**Tableau II**

Postes de sécurité Microbiologique (PSM).

	Fonctionnement	Filtres	Recyclages	Protections			
				du manipulateur	vis-à-vis de la pièce	de l'environnement	de l'échantillon
<b>PSM Type I</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Ouverte à l'avant et aspiration de l'air du local</li> <li>Pression négative</li> </ul>	HEPA en sortie vers l'extérieur ou vers le local	-	+ (sauf bras)	+/-	+	-
<b>PSM Type II</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Ouverte avec aspiration à l'avant</li> <li>70 % de l'air recyclé et filtré vers l'échantillon, 30 % en flux de sortie</li> </ul>	HEPA pour flux laminaire vers l'échantillon  2ème HEPA en sortie vers l'extérieur ou le local	+	+ (sauf bras)	+/-	+	++
<b>PSM Type III (bulle)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Enceinte fermée</li> <li>Manipulation via manchons à gants</li> <li>Flux filtrés et régulés en dépression constante</li> </ul>	HEPA en entrée et double HEPA en sortie	+	++	+	+	+/- Entrée par sas

permet la protection de l'échantillon situé alors dans le flux laminaire dirigé du haut vers le bas.

Les PSM de type III sont des enceintes entièrement fermées avec air extrait et filtré, gants intégrés, et passage de l'air de sortie sur deux filtres HEPA. le volume de travail est en dépression, en revanche la pression est positive à l'intérieur des gants (ou du scaphandre si le système est de taille importante). Dans l'usage quotidien, quelques règles de bon fonctionnement, décrites dans les notices du constructeur, doivent être respectées. Il est également nécessaire de veiller à une stricte observance des bonnes règles d'assurance qualité pour ces matériels (fiche de vie, entretien des matériels, visites de maintenance, traçabilité des incidents et éventuellement accidents,...). L'utilisation des hottes de type PSM deviendra de plus en plus indispensable pour les raisons de sécurité évoquées ci-dessus et permettra également la suppression progressive, très souvent demandée, des arrivées de gaz.

### 3. Les enceintes à flux laminaire

Il existe également dans les laboratoires de biologie médicale des hottes qui n'assurent pas toujours les garanties de bon fonctionnement obtenues avec les PSM. Ces hottes, leur fonctionnement et leurs limites doivent être connues car elle constitue un type d'équipement qui peut encore être utilisé dans des conditions défectueuses. Ces enceintes (tableau III) de conception et de réalisation anciennes ne sont pas toujours équipées de filtres HEPA, elles se caractérisent par un flux laminaire de direction variable. Aucune d'entre elles n'est suffisamment protectrice pour le manipulateur et pour l'environnement. Leurs caractéristiques privilégient plutôt la protection de l'échantillon à analyser. Ces enceintes subsistent encore dans les laboratoires et il est très important de bien les identifier afin d'en connaître les limites et de les soumettre annuellement à un entretien de maintenance effectué par des spécialistes.

**Tableau III**

Hottes à flux laminaires dites « anciennes ».

Catégories de hottes, selon année de mise en service	Recyclage et sortie vers local ou extérieur	Protection			
		Manipulateur	Contamination du laboratoire	Environnement	Echantillon
Flux laminaire horizontal	-	-	+/-	-	+
Flux laminaire vertical et Recyclage*	+	-	+/-	+/-	+
Flux laminaire vertical à recyclage et évacuation	+	-	+/-	- + HEPA	+

## 4. Les agents biologiques

Il est considéré que certains agents d'origine biologique peuvent être dangereux pour les travailleurs et leur définition a fait l'objet de textes réglementaires. Il s'agit de micro-organismes ou d'agents susceptibles de provoquer une infection, une allergie, ou une intoxication selon l'arrêté de mai 1994. Selon ce texte, les micro-organismes sont définis comme : «une entité microbiologique cellulaire ou non capable de se reproduire ou de transférer du matériel génétique, une entité microbiologique cellulaire ou non, capable de se reproduire ou de transférer du matériel génétique, y compris ceux qui ont été génétiquement modifiés (souche de collection/OGM.....) ».

Puis sont définies quatre classes sur les critères de danger pour les travailleurs et pour la collectivité, sur la possibilité de propagation, et d'altération de l'environnement. Enfin, un dernier critère utilisé est l'existence ou non de prophylaxie et de traitements des pathologies causés par ces agents biologiques.

## 5. Classement des laboratoires

Le classement en quatre groupes pour les micro-organismes est applicable aux quatre types de laboratoires. Ceux-ci sont décrits dans la norme européenne EN 12218 qui définit, avec plusieurs niveaux de confinement différents, les laboratoires de microbiologie PCL1, PCL2, PCL3 et PCL4 (ou P1, P2, P3, P4). Il s'agit de différents niveaux de "confinement physique" permettant la meilleure protection des manipulateurs. De plus, le texte de

cette norme donne des réponses à plusieurs questions pratiques. Par exemples : dans quels cas est-il nécessaire de séparer les espaces par des portes, quand la présence d'un PSM est-elle nécessaire (ou recommandée), quand faut-il traiter les effluents, quel doit être l'espace et la surface de travail.

Le respect de la sécurité est basé dans ce classement des laboratoires (tableau IV) sur le respect de trois points :

- la formation, la vaccination et les bonnes pratiques pour les manipulateurs ;
- les impératifs architecturaux ;
- l'utilisation d'équipements de sécurité de type PSM.

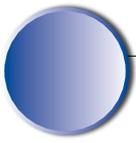
## V - Conclusion

L'énoncé de tous ces classements nous conduit à constater que le biologiste se doit de connaître un vaste ensemble de recommandations. Remarquons aussi que certaines d'entre elles sont opposables pour les biologistes médicaux du fait qu'elles sont citées dans le texte du GBEA au chapitre fonctionnement. De plus, ces recommandations seront très utiles dans tout type de projet architectural, de modifications de locaux ou de travaux que l'évolution des équipements et des techniques imposent régulièrement. Le courant de consumérisme relayé par celui de l'écologie nous rappelle aussi la nécessité de protéger les travailleurs et le devoir de respecter l'environnement. Enfin,

**Tableau IV**

Les 4 catégories de laboratoires selon les caractéristiques : formation et bonnes pratiques, aménagement architectural, matériel.

<ul style="list-style-type: none"> <li>• Paillasse et déchets décontaminés</li> <li>• Ne pas manger, ni boire, ni fumer dans les labos</li> <li>• Lavage des mains</li> <li>• Vêtement de protection</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Extermination des insectes et rongeurs</li> <li>• Elimination des seringues et objets à risque infectieux</li> <li>• Personnel vacciné</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tenue sans risques avec blouse fermant dans le dos</li> <li>• Accès contrôlés</li> <li>• Procédures affichées</li> <li>• Si incident, signaler : médecine du travail et Chef de labo et décrire la conduite à tenir.</li> <li>• Manuel de sécurité écrit - Personnel vacciné</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Formation spécifique</li> <li>• Changement complet de tenue</li> <li>• Douche dès sortie</li> <li>• Vêtement pression positive / scaphandre de travail</li> <li>• Manuel de sécurité écrit</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 9m<sup>2</sup> au sol / pers.</li> <li>• Labo facile à nettoyer</li> <li>• Une seule entrée</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fenêtres fermées</li> <li>• Lavage automatique des mains</li> <li>• Port de gants, de lunettes</li> <li>• Conteneurs pour aiguilles, pipette</li> <li>• Matériel contaminé à incinérer</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Séparés des autres labos</li> <li>• Labo facile à nettoyer</li> <li>• Existence de SAS - Traitement des effluents (évier, douches)</li> <li>• Décontaminés à l'intérieur - Pression négative</li> <li>• Autoclave double entrée</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• SAS avec douche</li> <li>• Isolement -Autoclave intérieur</li> <li>• Traitements de tous les effluents, évier, douches</li> </ul>
<b>Paillasse résistantes, imperméables ou PSM I</b>	<b>PSM I ou PSM II</b>	<b>PSMII ou PSM III</b>	<b>PSMIII ou IV (pression négative)</b>



on gardera à l'esprit que tout produit biologique est potentiellement contaminant quelque soit l'analyse effectuée et que la mise en place d'une démarche de biosécurité deviendra nécessaire pour tous les laboratoires de biologie médicale.

## BIBLIOGRAPHIE

(1) Vidal D., Paucoud J.-C., Thibault F., Isoard P., Biosécurité au laboratoire - Risque biologique, normalisation et pratique. *Ann. Pharmaceut. Franç.* 1993, **51** (3), 154-156.

(2) Chippaux A. Sécurité au laboratoire : état actuel de la législation en France. *Rev. Fr. Laboratoires*, 1999, **192**, 45-51.

(3) Documents pour le médecin du travail (INRS), 91, 3ème trimestre 2002.

(4) Petit L., Anhoury P., Management intégré des risques d'un établissement, risques et qualité, 2005, II, **1**, 48-49.

### Textes réglementaires, normes et documents d'intérêt

Décret du 5 novembre 2001 portant création d'un document relatif à l'évaluation des risques pour la santé et la sécurité des travailleurs. JO n°258 du 7 novembre 2001, 17523.

Arrêté du 13 août 1996 fixant la conception, les aménagements internes, les pratiques opératoires selon le niveau de confinement 2, 3 et 4 des laboratoires PCL2, PCL3, PCL4,

pour les travailleurs qui sont susceptibles d'être exposés aux agents biologiques pathogènes. JO du 7 septembre 1996.

Arrêté du 18 juillet 1994 : liste des agents pathogènes (JO du 30 juillet 1994, 11078-11081), modifié et complété par les arrêtés du 17 avril 1997 (JO du 26 avril 1997) et du 30 juin 1998 (JO du 22 juillet 1998).

Normes : ISO15189 / ISO15190 / EN12128

Guide DGS 1998 : pour l'élimination des déchets d'activités de soins à risques.

Décret 92-1261 du 3 décembre 1992, prévention du risque chimique : dispositions concernant les utilisateurs, modifié par le décret n° 94-181 du 1er mars 1994, JO du 5 décembre 1992 et JO du 2 mars 1994.

Décret du 6 novembre 1997 relatif à l'élimination des déchets d'activité de soins et assimilés. JO du 16 novembre 1997, 16675-16676.