

Maîtrise des risques infectieux en laboratoires de microbiologie

*L'activité des laboratoires de microbiologie présente des risques d'exposition infectieuse pour les professionnels qui y participent. Mais les personnels des autres laboratoires d'analyses médicales qui traitent des prélèvements provenant des mêmes patients sont également exposés à ces risques. La nature et l'importance de ces risques dépendent des types de laboratoires considérés. Il est donc important que les équipes de biologie et tous ceux qui concourent à leur sécurité au travail puissent mener leur propre démarche de prévention. L'objectif de ce dossier, s'appuyant sur deux études menées en milieu hospitalier, est de décrire la méthodologie d'évaluation et la stratégie de prévention préconisées.**

Les laboratoires d'analyses médicales représentent l'un des secteurs professionnels les plus exposés aux risques infectieux. La microbiologie est particulièrement concernée à cet égard puisque tous les agents biologiques sont susceptibles d'y faire l'objet d'examen à visée diagnostique. Sécuriser cette activité, c'est parvenir à maîtriser les risques aux différentes étapes du traitement des prélèvements. Il n'existe pas, pour cela, de solution univoque, du fait de la diversité des laboratoires selon leur importance, leur implantation, leur recrutement et leur spécialisation éventuelle. Il est donc nécessaire, pour chacun, d'instaurer sa propre démarche de prévention, selon le schéma préconisé par le décret n° 94-352 du 4 mai 1994 [1] et actualisé dans la directive européenne 2000/54/CE du 18 septembre 2000 [2]. L'étape initiale, théorique, prend en compte la nature des agents infectieux susceptibles d'être présents, leur classement en groupes de pathogénicité, leurs caractéristiques de virulence, de résistance, leurs modes de transmission... Il est nécessaire ensuite d'identifier les risques et leurs niveaux d'exposition dans les différents secteurs d'activité et aux différents postes de travail. Cette évaluation repose sur l'examen des données épidémiologiques chez les personnels du secteur concerné, l'observation et l'étude de leurs modalités de travail, leur interrogatoire orienté notamment sur la perception qu'ils ont du risque biologique... Les stratégies de maîtrise des risques en seront déduites. Elles reposent d'abord sur

la réduction, voire la suppression de ceux-ci, chaque fois que cela est possible. Les mesures de prévention des risques résiduels, intégrant des aspects organisationnels et techniques, la prévention médicale et la formation des personnels concernés seront instaurées. Enfin, l'évaluation du programme de prévention doit permettre d'actualiser régulièrement cette analyse du risque et de réajuster, le cas échéant, les mesures de sécurité. Ce sont les grands points de cette méthodologie d'évaluation des risques et de leur prévention qui sont abordés ici, illustrés en particulier par l'exemple d'une démarche menée en milieu hospitalier par le groupe d'étude sur les laboratoires, commun à l'Institut national de recherche et de sécurité (INRS) et au Groupe d'étude sur le risque d'exposition des soignants aux agents infectieux (GERES).

Description des dangers

MICRO-ORGANISMES

De très nombreux micro-organismes sont susceptibles d'être présents dans les échantillons biologiques manipulés, que ce soit ceux qui font l'objet de l'examen pratiqué, ou que ce soit des germes co-infectant un prélèvement destiné au diagnostic d'une autre affec-

S.TOUACHE (1),
A. LEPRINCE (2),
D.ABITEBOUL (3)

(1) Médecine du travail
du CHU de REIMS

(2) INRS, Institut national
de recherche et de
sécurité, département
Etudes et assistance
médicales, Centre de
Paris

(3) GERES, Groupe
d'étude sur le risque
d'exposition des soignants
aux agents infectieux,
CHU Bichat Claude-
Bernard, Paris

INRS

Documents
pour le Médecin
du Travail
N° 91
3^e trimestre 2002

231

* Article paru dans la revue Hygiène, 2002, volume X, n° 2, pp. 118-131.

TABLEAU I

Critères de classification des agents pathogènes, conformément au décret du 4 mai 1994 (article R. 231-61-1 du Code du travail)

Groupes	Pathogénicité chez l'homme	Danger pour le travailleur	Propagation dans la collectivité	Existence d'une prophylaxie ou d'un traitement efficace
1	non	-	-	-
2	oui	oui	peu probable	oui
3	oui	oui	possible	oui
4	oui	oui	risque élevé	non

tion. La diversité des agents infectieux potentiellement présents varie selon le recrutement de chaque laboratoire, sa spécialité propre et son implantation.

Une première approche des micro-organismes inventoriés prend en compte leur classification en groupes de pathogénicité tels que publiés dans l'arrêté du 18 juillet 1994 modifié [3]. Les critères de ce classement sont rappelés dans le *tableau I*. L'évaluation plus précise des dangers relatifs à chaque micro-organisme nécessite également d'en connaître les caractéristiques telles que le degré de virulence, la dose infectante, ainsi que les critères de viabilité, survie à l'extérieur de l'hôte, résistance à la dessiccation, aux ultraviolets, aux désinfectants... Les laboratoires de microbiologie sont particulièrement aptes à mener cette évaluation spécifique.

MODES DE TRANSMISSION

Les micro-organismes peuvent contaminer par voie respiratoire, digestive, transcutanée ou cutanéomuqueuse. La connaissance de ces modes de pénétration est indispensable à l'appréhension des dangers lors des manipulations [4]. Le *tableau II* illustre, au travers d'exemples d'agents biologiques, la classification combinée que l'on peut en établir par voie de transmission et par groupe de pathogénicité, l'une relativisant l'autre (astérisque du tableau). Ces voies de contamination étant connues, elles doivent être transposées aux circonstances d'exposition en laboratoires. Anticipant sur le deuxième point de la démarche méthodologique décrite initialement, on peut matérialiser quelques situations à risque de transmission infectieuse.

LA CONTAMINATION PAR VOIE RESPIRATOIRE

Elle résulte de l'inhalation de particules infectieuses véhiculées par des aérosols.

Les aérosols sont constitués de gouttelettes de liquide, ou de particules solides, détachées d'un produit sous l'action de forces mécaniques (vibrations, pression...). Ils se forment, en pratique, en laboratoire,

dans les circonstances suivantes [5] :

- la rupture de films liquides à l'orifice d'un flacon, à l'extrémité d'une pipette, ou au contact d'une anse d'ensemencement, qui sont la première cause d'aérosol ;

- le mélange gaz-liquide occasionné par l'agitation d'une culture, d'une éprouvette, ou celui provoqué par le rejet brusque de liquide hors d'une pipette ou d'une seringue qui contenait aussi quelques bulles d'air ;

- le flambage d'anses d'ensemencement en métal, le passage d'un récipient à la flamme, provoquent, sous l'effet de la chaleur, la vaporisation « explosive » de liquides résiduels, si rapidement que les gouttelettes expulsées contiennent des agents biologiques encore vivants ;

- les vibrations provoquent la projection de gouttelettes par effet « catapulte » lors de l'utilisation d'appareils de lyse par ultrasons, de vortex, etc. ;

- l'explosion d'une goutte qui tombe sur une surface engendre la formation de gouttelettes secondaires, d'autant plus importante que cette chute a été accélérée, comme, par exemple, lorsqu'on expulse le résidu d'une pipette ;

- les forces centrifuges, les phénomènes d'accélération, de freinage ainsi que les mouvements pivotants et les vibrations des centrifugeuses en font une source importante de production d'aérosols ;

- les matériels desséchés, sous forme de lyophilisats, de concrétions adhérant à des dispositifs d'obturation, de résidus de cultures séchant sur des surfaces émettent de petites particules lorsqu'ils sont grattés, cassés, filtrés... De même lors de l'ouverture de récipients sous vide, par exemple, de cultures lyophilisées.

Plus une particule est petite, plus le mouvement est accéléré (centrifugation, expulsion sous pression), plus le risque d'aérosolisation est important. Ce phénomène ne pouvant pas être macroscopiquement visualisé au quotidien, sa reconnaissance et son évaluation sont complexes. On estime pourtant qu'il constitue le mode de contamination le plus fréquent en laboratoire. Le risque d'inhalation infectieuse se situe alors surtout dans l'environnement immédiat de la production d'aérosol. Il peut également s'étendre à distance, par dissémination aéroportée à la faveur de courants d'air, en cas de pollution massive (bris d'un flacon de culture bactérienne, par exemple).

LA CONTAMINATION PAR VOIE ORALE

- Elle peut être directe, par ingestion accidentelle à l'occasion d'un pipetage « à la bouche », dont la pratique doit être formellement proscrite tant pour les solutions chimiques que pour les liquides biologiques.
- Beaucoup plus couramment, elle est indirecte par portage à la bouche d'objets souillés (stylo, cigarette...), de mains souillées (geste réflexe, onychophagie...) ou par consommation de boissons ou d'aliments contaminés (sur les paillasse, en laverie, en réfrigérateur du laboratoire ou au contact de mains souillées).

LA CONTAMINATION PAR VOIE CUTANÉO-MUQUEUSE

- Elle peut se faire par inoculation à l'occasion d'une effraction cutanée accidentelle : piqûre ou coupure par aiguille, lame, éclat de verre brisé, ainsi que par morsure ou griffure dans les animaleries.
- Elle peut se faire par projection ou contact direct cutané, sur peau lésée (plaie, excoriations, lésions d'eczéma...), voire sur peau saine pour certaines bactéries qui peuvent traverser celle-ci (*Brucella*, *Leptospira*, *Francisella*...)
- Elle peut être aussi le fait d'une projection sur des muqueuses, en particulier au niveau des conjonctives oculaires très perméables aux transmissions infec-

Exemples d'agents pathogènes répartis en fonction de leurs modes de transmission et de leur classification

TABLEAU II

TRANSMISSION	BACTERIES			VIRUS			PARASITES		
	maladie	agent	groupe	maladie	agent	groupe	maladie	agent	groupe
RESPIRATOIRE	tuberculose	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	3 V	grippe	Influenzae	2 V			
	coqueluche	<i>Bordetella pertussis</i>	2 V	rougeole	Virus de la rougeole	2 V			
	méningite à méningocoque	<i>Neisseria meningitidis</i>	2 V	oreillons	Virus des oreillons	2 V			
	méningite, infections ORL et épiglottite à hemophilus	<i>Haemophilus influenzae</i>	2 V	rubéole	Rubivirus	2 V			
				varicelle	Varicellovirus	2			
				mégalérythème épidémique	Parvovirus B19	2			
				infection à virus respiratoire syncytial	VRS	2			
DIGESTIVE (FECO-ORALE)	syndrome dysentérique	<i>Shigella dysenteriae</i>	3 T(*)	poliomyélite antérieure aiguë	Poliovirus	2 V	cryptosporidiose	<i>Cryptosporidium</i>	2
	syndrome gastro-entérique	<i>Campylobacter jejuni</i>	2	hépatite A	VHA	2 V	giardiase	<i>Gardia lamblia</i>	2
	syndrome gastro-entérique	<i>Escherichia coli</i> entéro-pathogène	2	diarrhée virale	Rotavirus	2			
	syndrome gastro-entérique	<i>Salmonella non typhiques</i>	2						
	fièvre typhoïde	<i>Salmonella typhi</i>	3 V(*)						
SANGUINE (TRANS-CUTANEO MUQUEUSE)				hépatite B	VHB	3 V(*)			
				hépatite C	VHC	3 (*)			
				immunodéficience humaine	VIH	3 (*)			

Lexique : T Agent biologique susceptible de produire des toxines
V Existence d'un vaccin disponible (contre tout ou partie des types de l'agent pathogène)
(*) Accolé à certains agents biologiques du groupe 3, cet astérisque indique qu'ils peuvent présenter un risque d'infection limité car ils ne sont normalement pas infectieux par l'air

INRS

Documents pour le Médecin du Travail N° 91 3^e trimestre 2002

tieuses du fait de la richesse de leur vascularisation, et dont la désinfection efficace est parallèlement plus difficile.

Identification des risques et évaluation de l'exposition

DONNÉES ÉPIDÉMIOLOGIQUES

Les données relatives aux infections contractées du fait ou à l'occasion d'activités professionnelles en laboratoires sont très peu nombreuses.

Cette carence en informations résulte à la fois de la nature des pathologies et de leurs modalités de recensement :

- les formes les plus bénignes ne sont pas toujours cliniquement identifiées et ne font généralement l'objet d'aucune déclaration ;
- lorsque le diagnostic est clairement établi, c'est la relation avec l'activité en laboratoire qui peut ne pas l'être : soit par méconnaissance du contexte professionnel, soit parce que le lien de causalité n'est pas univoque ; cette relation étant d'autant plus difficile à affirmer quand l'incubation est longue ;
- certains événements sont volontairement non déclarés par les personnels par peur d'être accusés d'erreurs professionnelles ou parce qu'ils redoutent l'absence de confidentialité dans les procédures de gestion médico-administrative ;
- enfin, les systèmes d'enregistrement des pathologies déclarées d'origine professionnelle ne permettent pas de distinguer les maladies contractées en milieu de soins et en laboratoires.

Seuls, donc, des publications de cas et les résultats d'enquêtes spécifiques permettent d'approcher la connaissance épidémiologique des infections acquises en laboratoires.

Une revue des cas rapportés, par pathologies, a été publiée par Collins [6]. Elle atteste de la diversité des agents biologiques incriminés et de la prééminence des infections contractées en laboratoires de recherche. Si 17,3 % des cas publiés sont imputés à des laboratoires de diagnostic, c'est la spécialité de microbiologie qui est le plus souvent citée. Dans environ 40 % de l'ensemble des cas rapportés, le mode de transmission présumé est une inoculation percutanée, à rapprocher du fait que, dans de nombreux pays, ce sont des technicien(ne)s de laboratoire qui effectuent les prélèvements.

L'enquête épidémiologique la plus ancienne est celle de Sulkin et Pike qui a recensé 3 921 cas d'infections survenues en laboratoires aux Etats-Unis, de 1930 à 1976 [7]. Il s'agissait en fait de l'ensemble des cas déclarés par quelque 5 000 laboratoires américains et de ceux qui sont publiés dans la littérature. Les 10 principales pathologies infectieuses acquises en laboratoires retrouvées dans cette enquête (55 % des cas) étaient : brucellose, fièvre Q, hépatites virales, fièvre typhoïde, tularémie, tuberculose, mycose cutanée, encéphalite équine vénézuélienne, psittacose, coccidioidomycose.

Les limites de la valeur épidémiologique de cette étude tiennent à la diversité des sources, à la très longue période d'enregistrement pendant laquelle la nature des expositions et les techniques ont beaucoup évolué, et à l'absence de spécification des types de laboratoires.

Deux enquêtes rétrospectives ont été menées ensuite en France : celle d'Estienne, Rio et Stoessel en 1977 qui a recensé les événements infectieux survenus parmi 2 159 personnels d'hôpitaux généraux sur une période de 5 ans [8] ; et celle de Franck et Saux, en 1985, qui a procédé au même type de recensement sur 5 ans auprès de 2 317 personnels de laboratoires hospitaliers et 2 180 de laboratoires privés [9]. Là encore, les modalités de recueil sont hétérogènes et non exhaustives. Toutefois, ces deux études retrouvent la même prépondérance des hépatites et de la tuberculose :

- les taux d'incidence annuelle, calculés au sein des populations hospitalières, sont respectivement de 1,3 % en 1977 ainsi qu'en 1985 pour les hépatites, et de 0,3 % en 1977 et 0,13 % en 1985 pour les cas de tuberculose ;
- les incidences calculées à partir des pathologies notifiées en 1985 en secteur privé sont très inférieures, de 0,4 % pour les hépatites et de 0,04 % pour la tuberculose.

Ces derniers taux ont été très probablement sous-estimés, et ce d'autant que la proportion de personnels de laboratoires vaccinés contre l'hépatite B n'était alors que de 30 % en secteur privé, versus 69 % en laboratoires hospitaliers.

La répartition des hépatites B en 1985, par catégories professionnelles, atteste que ce sont les techniciens qui en ont été affectés dans 79 % des cas et que, dans 19 % des cas, il s'agissait de personnels d'entretien et, dans 2 % des cas, de secrétaires.

Plus récemment et de façon beaucoup plus focalisée et ponctuelle, une double étude a été réalisée en 1996 et 1998 par l'INRS et le GERES [10, 11].

Conçu pour documenter et actualiser certains aspects épidémiologiques, ce travail a inventorié les

données au sein d'un échantillon de 26 laboratoires hospitaliers, regroupant un effectif de 788 personnels.

Le recensement des maladies infectieuses survenues dans les 5 années précédentes (de 1990 à 1995), a permis d'objectiver 5 cas de pathologies présumées d'origine professionnelle : une hépatite B, une hépatite C, un cas de tuberculose, une infection par mycobactérie atypique et un cas de toxoplasmose (chez une technicienne réalisant des inoculations chez la souris). En 1998, aucune nouvelle maladie infectieuse n'a été recensée dans la population étudiée.

En ce qui concerne les accidents exposant au sang (AES), l'enquête de 1996 a comptabilisé 37 cas déclarés dans l'année précédente, sous forme de 16 piqûres, 14 coupures et 7 projections. Cela représente une incidence de 0,046 AES par an et par personne, incidence qui s'établit à 0,039 par an et par personne en 1998.

La confrontation de ces données, issues des dossiers de médecine du travail, avec les réponses apportées par les mêmes personnels aux questionnaires de l'enquête permet d'établir un rapport d'environ 3 déclarations pour 4 accidents survenus – soulignant que ce taux de 75 % de déclaration ne concerne que des populations hospitalières qui sont globalement encouragées à déclarer, et pour lesquelles les procédures administratives sont relativement simples, sinon rapides.

PERCEPTION DU RISQUE INFECTIEUX PAR LES ÉQUIPES DES LABORATOIRES

Ce sont les personnels de laboratoires de microbiologie qui sont le plus sensibilisés aux risques infectieux en raison de la nature même de leur travail d'identification et de caractérisation des micro-organismes. Leurs pratiques techniques les contraignent également à protéger les prélèvements qu'ils manipulent d'une contamination secondaire en laboratoire. Ces équipes ont donc une « culture » du risque biologique, contrairement, par exemple, à un biochimiste mesurant une glycémie sur un tube de sang présentant pourtant le même risque infectieux potentiel qu'un tube de sérologie virale.

La conscience du risque chez les salariés est documentée par les deux études précitées [10, 11] qui ont comporté des questionnaires de perception, complétés par 331 personnes en 1996 et 190 en 1998, dont 2/3 de technicien(ne)s.

En réponse à la question ouverte : « Citez la circonstance qui vous paraît la plus à risque de contamination infectieuse dans votre travail », quatre items ont été le plus souvent cités dans les deux enquêtes :

- la réception et le tri des prélèvements ont été

mentionnés dans 21 % des réponses de 1996 et dans 11 % de celles de 1998 – plus de 60 % de ces réponses émanant de secrétaires dont cette tâche est la seule circonstance d'exposition potentielle ;

- le débouchage des tubes est cité dans 20 % des cas en 1996 et 16,5 % des cas en 1998, exclusivement par des technicien(ne)s ;

- les opérations de centrifugation et décantation sont pointées dans 14 % des réponses en 1996 et 10 % en 1998, également par les technicien(ne)s ;

- les manipulations de verrerie, incluant les pipettes Pasteur, sont incriminées dans 8 % des cas en 1996 et 13 % en 1998, majoritairement encore par des technicien(ne)s, mais aussi par des aides de laboratoires et des agents de laverie.

ÉTUDE DES CONDITIONS MATÉRIELLES DE TRAVAIL

L'évaluation quantitative de l'activité d'un laboratoire, mesurée en nombre d'actes annuels et en cotation de ceux-ci, est le premier élément à considérer, en tant qu'indicateur de la charge globale de travail, rapportée aux moyens en personnels et en matériels qui lui sont dévolus. La répartition dans le temps et les circonstances de cette activité sont également à prendre en compte, sachant que les incidents sont beaucoup plus fréquents, à tâche égale, lorsque les effectifs sont temporairement réduits (périodes de congés) ou lors de travaux réalisés en urgence (activité de garde...).

L'architecture du laboratoire, la superficie et l'organisation de ses locaux constituent le deuxième critère de cet « état des lieux », à confronter aux recommandations réglementaires afférentes [12,13]. Si les équipes se plaignent volontiers de l'étroitesse de leurs sites de travail, on observe assez souvent une mauvaise utilisation de la surface impartie. L'attribution des espaces, instaurée à la création des services, devrait être réévaluée au fur et à mesure de l'implantation de nouvelles techniques et de nouveaux matériels. Faute de quoi, les appareils récemment acquis sont installés là où il reste un peu de place libre, et non là où ils sont le plus fonctionnels – obligeant à de nombreux déplacements, eux-mêmes sources d'incidents et de risques de contamination. L'audit des laboratoires au cours de l'étude INRS-GERES a ainsi objectivé des déplacements avec changements de pièces, en cours de technique, dans 82 % des actes observés (n=90).

L'organisation des lieux doit également tenir compte de la distinction des circuits propre/sale : créer un cloisonnement, aussi matérialisé que possible, entre les secteurs non exposés - secrétariat, bureaux, zones de

repos (café...) - et les secteurs exposés, et, au sein de ceux-ci, individualiser des zones protégées pour les actes « propres » (téléphone, ordinateur...). Cet aspect organisationnel de l'hygiène et la sécurité semble être actuellement mieux pris en compte puisque, dans l'exemple de l'enquête précitée, près d'un tiers des laboratoires avaient redistribué une partie de leurs surfaces entre 1996 et 1998 : les uns en aménageant, par cloisonnement total ou partiel, des espaces de réception des prélèvements, initialement inclus dans leur secrétariat ; les autres en regroupant des zones techniques pour libérer la pièce nécessaire à l'autonomisation d'une salle de repos du personnel distincte des salles de techniques ou de laverie.

Les équipements et mesures d'hygiène de base doivent être ensuite inventoriés : nombre de postes de lavage des mains, implantation par rapport aux activités techniques, équipements... sont autant de questions primordiales vis-à-vis de l'hygiène au laboratoire. L'expérience prouve qu'ils sont rarement spécifiques et distincts des éviers de paillasse. En revanche, en milieu hospitalier du moins, ils sont de mieux en mieux équipés en distributeurs de savon (92 % des points d'eau en 1998 versus 77 % en 1996) et en essuie-mains jetables (68 % versus 28 %). Pour ce qui est des robinets à commande non manuelle, 14 % des points d'eau observés en 1998 en étaient dotés. Quant à l'usage qui en est fait, force est de constater qu'il y a beaucoup à progresser puisque l'audit d'observation ne documente de lavage des mains que dans 30 % des cas au changement d'activité, dans 66 % des cas en fin de technique et dans 50 % des cas en sortie du laboratoire.

Cet inventaire des mesures d'hygiène doit intégrer les informations quant aux vestiaires des personnels : leur existence, leur nombre, leur installation au sein du laboratoire et... leur utilisation réelle. En corollaire, le port d'une tenue de travail protectrice doit être assuré. Le choix d'un ensemble tunique-pantalon est préférable à la classique blouse : parce qu'il assure la fermeture du vêtement, qu'il protège également les jambes – volontiers exposées lors de travail en posture assise –, et qu'il minimise le port de la tenue de ville sous jacente... et souvent dépassant (manches de chemises ou de gilets traînant sur les paillasse).

La pertinence de la mise à disposition d'équipements complémentaires de protection individuelle ne peut être évaluée qu'en fonction des indications spécifiques de leur utilisation.

En termes d'appareillages, il faut prendre en compte à la fois l'aspect quantitatif de la dotation, mais aussi les aspects qualitatifs, indissociables du degré de vétusté du matériel.

Le souci de développer des techniques de plus en plus performantes conduit à investir dans de nouveaux matériels, dont la conception intègre dorénavant les critères de sécurité. Ceci est particulièrement vrai pour

les automates dont certains modèles récents travaillent directement, sans débouchage, sur tubes primaires, flacons de prélèvement d'hémoculture...

En revanche, le remplacement des appareils dont la technologie intrinsèque évolue moins, est, de ce fait, moins prioritaire dans les choix budgétaires. C'est le cas, en particulier, des centrifugeuses, dont l'étude INRS-GERES avait révélé, en 1996, que 51 % du parc avait plus de 5 ans, et que 16 % avait plus de 15 ans d'ancienneté. A cet égard, il est important de rappeler que l'article II-3-3-1 du « Guide de Bonne Exécution des Analyses de biologie médicale » (GBEA - arrêté du 26 novembre 1999) fait obligation aux laboratoires d'analyses microbiologiques de se doter de centrifugeuses à sécurité intégrée, avec blocage de couvercle et nacelles étanches [13].

Les postes de sécurité microbiologiques ou PSM - à distinguer formellement des hottes chimiques ou sorbonnes - constituent une entité particulière au sein des équipements. Ils nécessitent une démarche très construite pour en poser les indications, choisir le type de matériel adapté à l'usage prévu, prévoir les critères techniques de leur installation, former les personnels à leur utilisation, rédiger les protocoles d'entretien et de maintenance. Sans détailler tous ces aspects, on peut toutefois signaler ce qui semble, dans la pratique, présenter le plus de difficultés. La conception de l'installation est une étape préalable très importante. Elle doit être menée en partenariat avec les fournisseurs du matériel, qui en connaissent toutes les exigences technologiques, et les référents architecturaux et techniques du laboratoire (ingénieurs biomédicaux, par exemple), qui maîtrisent toutes les contraintes et ressources locales en terme de systèmes de ventilation, régulation thermique... Une collaboration étroite entre ces deux parties est garante du fonctionnement optimal de l'appareil et de son efficacité. Dans tous les cas, le choix d'un PSM se portera sur un matériel conforme à la norme NF-EN 12469 et portant la marque NF-PSM, laquelle apporte la garantie d'une fabrication sous assurance qualité. La liste des modèles de PSM admis à cette marque peut être obtenue auprès du Laboratoire national d'essais*.

La description du « petit matériel » s'attache à préciser quelle est la proportion de matériel à usage unique – et comment l'augmenter – ainsi que la quantité de verrerie utilisée – et comment la réduire. Cela s'applique tout particulièrement aux pipettes, dont les deux enquêtes hospitalières témoignaient d'une consommation moyenne de 27 000/an/laboratoire, et dont près de 40 % se sont reportées du verre au polyéthylène entre les deux évaluations de 1996 et 1998.

Les équipements destinés à la neutralisation des produits biologiques et l'élimination des déchets sont également à intégrer aux aspects matériels : la dotation – et les procédures d'utilisation – des pots à Javel,

encore très présents sur les paillasses, des grands conteneurs en polypropylène, de ceux en carton doublé de plastique, des petits conteneurs à objets piquants et tranchants ainsi que des fûts à effluents liquides, avec leurs éventuels regroupements catégoriels, doit être définie avec précision.

Le recensement et les indications d'utilisation des autoclaves font partie de cette même rubrique.

CIRCONSTANCES D'EXPOSITION AUX POSTES DE TRAVAIL

Les tâches possibles en microbiologie sont nombreuses et ne peuvent pas être toutes détaillées ici. Ce ne sont donc que quelques exemples des circonstances d'exposition les plus fréquentes et les plus communément retrouvées dans tous les laboratoires qui seront ici commentés.

La réception, l'enregistrement et le tri des prélèvements sont les premières circonstances d'exposition, à l'arrivée des échantillons biologiques, au laboratoire. Les risques inhérents à cette activité dépendent de l'état des tubes, pots... dont les modalités de remplissage et de fermeture, la fragilité éventuelle, déterminent, en amont, la probabilité de souillure ou de bris. Ils dépendent ensuite de leur conditionnement pour le transport, idéalement en pochettes étanches, protégeant des éventuelles souillures, transparentes pour visualiser celles-ci avant ouverture, et à double compartiment pour isoler le bon d'examen. Ils dépendent encore des modalités d'acheminement qui peuvent se faire, en conteneurs, par des coursiers ou par systèmes automatisés, en intra- ou en inter-établissements. Ils peuvent également être livrés par colis postaux, avec, en ce cas, un risque encore accru de détérioration et de déversement du contenu, et ce malgré la réglementation rigoureuse sur le triple emballage des produits biologiques à expédier.

Les autres déterminants du risque sont la formation du personnel qui y est affecté (technicien(ne)s, aide de laboratoire ou secrétaire), l'installation du poste proprement dit (espace spécifique ou non) et l'utilisation ou non de protections : gants pour la manipulation des prélèvements, film plastique pour protéger le clavier informatique servant à l'enregistrement...

Les dangers liés à la distribution des échantillons dans les différentes pièces techniques sont ceux des risques de collision ou de chutes, avec les plateaux ou les portoirs, d'autant plus grands que les zones de circulation du laboratoire sont étroites, encombrées, et segmentées par des portes... surtout lorsque celles-ci sont battantes.

Les opérations de centrifugation et décantation constituent le traitement initial d'un grand nombre

d'échantillons en laboratoires de microbiologie. La sécurisation de cette étape dépend avant tout de celle des centrifugeuses, comme cela a déjà été mentionné, ainsi que de la compatibilité des tubes de prélèvements avec les portoirs des nacelles. C'est en effet grâce à cette adéquation des tailles et volumes que les tubes primaires pourront être centrifugés directement, et à bouchons fermés. Dans le cas contraire, un transvasement préalable du produit biologique est nécessaire, lequel crée une circonstance supplémentaire d'exposition.

Quant à la décantation, elle nécessite tout d'abord le débouchage des tubes qui ont été centrifugés fermés. Quel que soit d'ailleurs le moment de ce débouchage, il présente un risque de projections, d'autant plus grand que les tubes sont très remplis et que les bouchons sont rentrants ; il s'associe également à un risque de bris de tubes, surtout lorsque ceux-ci ont été fragilisés antérieurement (fêlure non détectée après transport...), avec alors un danger évident de coupure et de contact avec le produit biologique pour le(la) technicien(ne) manipulateur(trice).

Le prélèvement et la répartition du surnageant ne posent pas d'autres problèmes dans la mesure où ils sont effectués par l'une des méthodes actuelles de pipetage mécanique - voire électriques -, avec utilisation d'embouts jetables.

Le traitement des prélèvements solides (fragments de pièces chirurgicales...) nécessite une éventuelle découpe initiale au scalpel, avec un danger potentiel de coupure à maîtriser. Une opération secondaire de broyage est généralement effectuée par action mécanique, qu'elle soit manuelle par l'action d'une tige ou d'un piston au fond d'un tube, ou qu'elle soit relayée par un appareil électrique ; dans ce cas, c'est un danger de projection qui est à prendre en compte.

Des opérations d'homogénéisation peuvent devoir être pratiquées après dilution des produits techniques. Là aussi, ce sont des risques de projection qui doivent être contrôlés par le respect d'un niveau maximal de remplissage des tubes et par le bouchage de ceux-ci.

Le traitement des hémocultures pose de moins en moins de problème depuis que son automatisation se généralise, sur flacons sécurisés.

Globalement, les conditionnements actuels des prélèvements - autres que les tubes simples - permettent le traitement technique des produits sans nécessité de ponctionner avec une aiguille montée sur seringue. Une exception semble persister dans certains établissements pour les liquides d'aspiration des drains de redon qui parviennent encore parfois aux laboratoires dans de gros flacons non débouchables et pour lesquels un risque de piqûre persiste, au retrait de l'aiguille, après ponction au travers de la capsule en caoutchouc. On peut alors préconiser l'emploi de systèmes en plastique rigide, à usage unique, dans lesquels le prélèvement s'effectue avec une propipette, après avoir

supprimé le vide par une soupape pour éviter le risque de projection, tels que décrits dans le guide des matériels de sécurité GERES [14].

Les risques de projection, à l'ouverture des autres contenants, est fonction du matériel choisi et, là encore, du niveau de remplissage.

Lesensemencements doivent se pratiquer sous PSM, en évitant, comme ailleurs, l'utilisation de pipettes Pasteur, trop facilement cassables et sources de blessures, et en privilégiant les petits matériels plastiques à usage unique (anses, râtaux...)

Le traitement des selles, longtemps très « artisanal », surtout en parasitologie, peut désormais être réalisé avec un minimum de contacts directs, grâce à des flacons emboîtables et à filtres intégrés, entièrement jetables.

Les prélèvements pour recherche de bacilles de Koch (BK) intègrent le risque intrinsèque de cet agent pathologique dont on a déjà vu qu'il avait été à l'origine d'assez nombreuses contaminations professionnelles en laboratoires. Sa classification, en groupe 3, et son mode de transmission, imposent des mesures de confinement appropriées.

Stratégie de maîtrise des risques

PRINCIPES GÉNÉRAUX

La sécurité et la protection de la santé au travail font désormais partie intégrante de l'assurance qualité des examens de laboratoires et constituent, en tant que telles, une rubrique à part entière du GBEA (article II-1-1 de l'arrêté du 26 novembre 1999) [13].

La décision d'appliquer une politique de sécurité suppose l'implication de la hiérarchie et de tous les acteurs concernés. Concrètement, cela nécessite que chacun s'investisse en processus de réflexion, en décisions budgétaires...

Cela suppose aussi de nombreux échanges transversaux, tant il est vrai que les choix de matériels ne peuvent atteindre leurs objectifs de sécurité que s'ils sont cohérents de bout en bout de la chaîne des utilisateurs. A titre d'exemple, le choix d'un modèle pour l'achat d'une centrifugeuse doit intégrer une réflexion, du laboratoire et des décideurs, sur les critères de sécurité de fonctionnement de l'appareil. Il doit aussi prendre en compte la compatibilité des tubes adressés par les différents correspondants et, le cas échéant, rediscuter du choix de ceux-ci pour les adapter aux nouveaux

paramètres du matériel. Enfin, les personnels en charge du nettoyage et de la maintenance du matériel doivent aussi être consultés pour faire valoir leurs propres arguments de sécurité.

C'est donc toute une concertation à instaurer dont peuvent être en charge des personnes référentes ou relais, spécialement formées à ces questions au sein du laboratoire, et qui sauront identifier les interlocuteurs compétents à tous les niveaux.

Un autre principe général important consiste à instaurer une transparence de l'information pour tout ce qui concerne la sécurité. Il faut pouvoir faciliter la déclaration des accidents de travail, sans culpabiliser les personnels, et en s'efforçant d'analyser les faits rapportés pour en tirer des enseignements quant à la façon de sécuriser davantage les matériels et les procédures.

NIVEAUX DE CONFINEMENT

Les directives internationales se fondent, pour les consignes d'aménagement des laboratoires, sur le principe d'un confinement graduel : empêcher tout d'abord la dissémination de l'agent biologique dans le milieu de travail, puis sa transmission aux travailleurs et enfin en limiter la propagation accidentelle dans l'environnement.

Le seul texte faisant référence actuellement, à ce sujet, dans la législation française, est l'arrêté du 13 août 1996, visant les industries et les laboratoires de recherche et d'enseignement [15].

Trois niveaux de sécurité y sont définis, cotés 2, 3 et 4, à rapprocher de la classification des agents pathogènes. Les mesures à mettre en œuvre pour la manipulation d'un microorganisme, par exemple, du groupe 3, sont celles d'un confinement de type 3.

Mais cette notion générale est à moduler en fonction de l'évaluation spécifique du risque qui peut s'avérer :

- accru du fait de la manipulation de l'agent biologique en culture, chez l'animal [16] ;
- relativisé du fait de l'absence d'infectiosité par voie aérienne (* de la classification).

Ainsi la manipulation du BK, classé 3, et du VIH, classé 3 (*), n'imposent pas les mêmes précautions de manipulation.

Les trois niveaux progressifs de sécurité sont décrits dans le *tableau III*, les règles énoncées pour chacun venant se cumuler à celles du niveau précédent.

Les champs d'application autres que ceux des laboratoires de l'industrie, de la recherche et de l'enseignement devraient faire l'objet d'un arrêté en cours de préparation. Sa parution prochaine permettra de codifier les prescriptions réglementaires en terme de mesures de confinement pour les laboratoires d'analyses médicales.

Résumé des mesures à appliquer en fonction des niveaux de sécurité

TABLEAU III

MESURES	NIVEAUX DE SÉCURITÉ		
	2	3	4
CONCEPTION DES LOCAUX			
Signalisation par le pictogramme "risque biologique"	oui	oui	oui
Séparation zone de sécurité / reste des locaux	*	oui	oui
Fenêtres	fermées pendant le travail	verrouillées	étanches, anti-effraction
Accès réglementé	autorisation nécessaire	accès limité, par sas	accès par sas, limité aux opérateurs
Hygiène et décontamination des personnes			
• lavabo (à commande non manuelle)	oui	oui + dans sas	oui dans chaque pièce + dans sas
• douche	-	optionnelle	oui
Possibilité de fermeture hermétique à des fins de désinfection	optionnel	recommandé	oui
Filtration HEPA *			
• de l'air extrait	-	oui	oui par double filtre
• de l'air entrant	-	optionnelle	oui
Dispositif permettant d'observer les occupants	optionnel	recommandé	oui
Maintien du local en dépression	-	oui	oui, avec gradient
ÉQUIPEMENTS SPÉCIFIQUES			
Postes de sécurité microbiologique ou équivalents	oui	oui	oui PSM type III
Manipulation des matériels et animaux infectés en PSM ou système de confinement adapté	optionnel	oui	oui
Surfaces imperméables à l'eau et faciles à nettoyer	surfaces de travail	surfaces de travail et sols	toutes surfaces exposées
Surfaces résistantes aux acides, bases, solvants et désinfectants	recommandé	oui	oui
Autoclave	dans le laboratoire ou le bâtiment	dans l'unité	autoclave à double entrée dans le local
MESURES ORGANISATIONNELLES			
Disponibilité de méthodes de désinfection spécifiques	oui	oui	oui
Stockage des agents biologiques en lieu sûr	oui	oui	oui, accès protégé
Lutte efficace contre les vecteurs potentiels (rongeurs, insectes, etc.)	recommandé**	oui	oui
Collecte et inactivation des effluents avant rejet	non exigé	oui	oui
Élimination de la biomasse	inactivation	inactivation dans l'unité	cuve d'inactivation avec contrôle d'efficacité

* High efficacy particulate air filter.

** Si l'analyse de risque le justifie.

RÈGLES GÉNÉRALES DE BONNES PRATIQUES AU LABORATOIRE

Quel que soit le niveau de sécurité et les postes de travail considérés, un certain nombre de règles, que rappellent le *tableau IV*, sont applicables dans tous les cas [17].

- L'organisation du laboratoire doit permettre la distinction formelle entre les secteurs « propres », non

exposés (secrétariat, bureaux, zones de repos) et les secteurs exposés où sont manipulés des produits biologiques et matériels souillés (accueil des prélèvements, pièces techniques, laverie...), avec ou sans sas selon le niveau de protection requis.

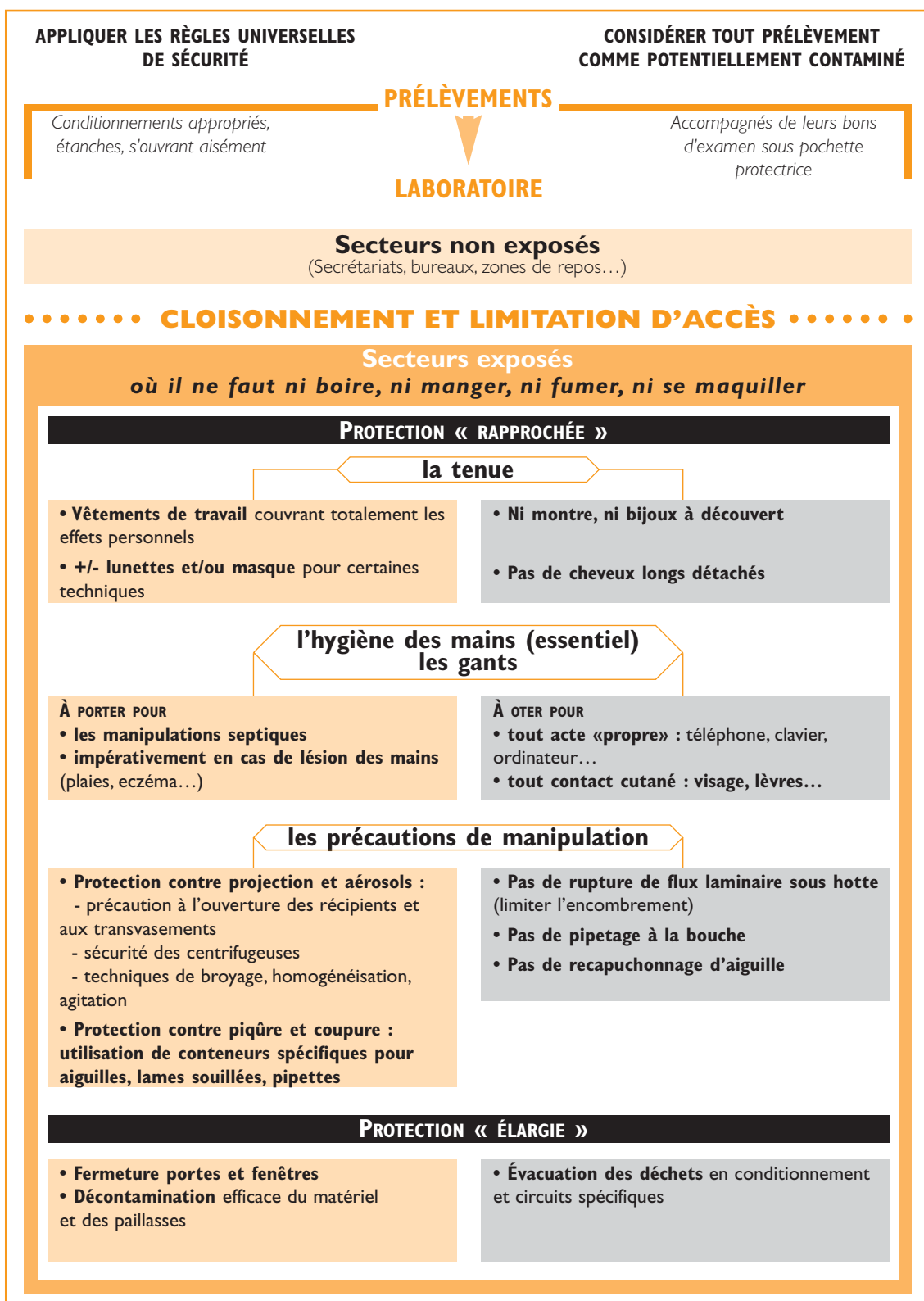
Les zones de circulation intra- et inter- secteurs doivent être suffisamment larges et de circulation aisée, non encombrées.

- En secteur exposé, il est interdit de boire, manger, fumer et se maquiller.



TABLEAU IV

Bonnes pratiques de laboratoires



Aucun produit consommable ne doit non plus y être entreposé (dans les réfrigérateurs techniques, en particulier).

- Les personnes qui y travaillent et celles qui y sont transitoirement admises (stagiaires...) doivent y porter une tenue spécifique, mise et retirée au vestiaire du laboratoire, sans passage par le domicile personnel.

En cas très particulier d'allergie individuelle aux produits de nettoyage utilisés pour le traitement du linge du laboratoire, un relavage personnel est possible au domicile, mais exclusivement sur linge propre, à but de rinçage.

Les vêtements de travail doivent couvrir totalement les effets personnels ou, mieux, remplacer ceux-ci (tunique-pantalon).

Les chaussures doivent être fermées, au moins devant, pour protéger des projections et chutes d'objets blessants, être nettoyables et de préférence à semelles anti-dérapantes.

- Le port de montre ou de bijoux à découvert doit être proscrit, de même que celui des cheveux longs détachés.

- Des protections complémentaires telles que lunettes et/ou masque sont indiquées pour certaines manipulations, lorsqu'il persiste un risque spécifique individuel, malgré l'utilisation correcte des équipements collectifs de sécurité (PSM...).

Ces indications doivent alors être clairement établies, et le matériel adéquat aisément accessible à chaque poste de travail concerné, et utilisable par tous (sur-lunettes adaptables aux porteurs de lunettes de vue, elles-mêmes insuffisamment protectrices...).

Un protocole de nettoyage et désinfection des lunettes doit, par ailleurs, accompagner leur attribution.

- L'hygiène des mains est fondamentale : des ongles courts et sans vernis, l'absence de bijoux et des lavages réguliers, correctement réalisés, en sont les garants.

Cela présuppose l'installation de postes de lavage en nombre suffisant et bien équipés : distributeurs de savons, essuie-mains jetables et, chaque fois que possible, robinets à commande non manuelle.

L'usage de brosses à ongles, sources de microtraumatismes, est à éviter. En cas de nécessité de brosse, le choix d'une brosse à ongle de type chirurgical, à usage unique ou stérilisée, est à privilégier.

- Le port de gants est préconisé pour les manipulations septiques ; il est impératif en cas de lésion des mains (plaie, excoriation, eczéma...).

En revanche, les gants doivent être ôtés pour tout acte « propre » (téléphone...) et pour tout contact cutané (visage, lèvres...).

Enfin, le port de gants ne dispense pas du lavage des mains, au retrait de ceux-ci.

Certaines précautions de manipulation sont universelles :

- interdiction du pipetage à la bouche,
- proscription totale du recapuchonnage des aiguilles,

- nécessité d'équiper de conteneurs spécifiques à objets piquants et tranchants tous les postes de travail où l'on peut avoir à utiliser et éliminer des aiguilles, des lames, des pipettes...

- des protections en matériau absorbant doivent recouvrir les paillasse où il y a risque de projections et de souillures (décantation...),

- des précautions particulières doivent être prises à l'ouverture des récipients et aux transvasements, de même qu'à la réalisation des procédures à risque telles que centrifugation, broyage, homogénéisation, agitation...

- certains choix d'approvisionnement doivent être systématiquement privilégiés, tel que le matériel à usage unique et le remplacement de la verrerie par du matériel non ou peu cassable.

DEUX EXEMPLES DE MESURES PARTICULIÈRES À DES POSTES DE TRAVAIL

Réception, tri et enregistrement des prélèvements

- Le risque inhérent à cette activité est, comme cela a déjà été évoqué au chapitre de l'analyse, très lié à ce qui se pratique en amont de l'arrivée des prélèvements : choix des récipients, modalités de leur remplissage et de leur transport.

Le laboratoire doit donc pouvoir participer au choix du matériel - voire en être le décisionnaire - et échanger régulièrement avec les correspondants qui lui adressent et lui acheminent les prélèvements. Une fiche courtoise mais détaillée et explicative de « non conformité », accompagnant ou remplaçant les résultats d'un tube souillé, endommagé ou brisé, permet de responsabiliser les différents acteurs.

- L'accueil et les manipulations initiales des prélèvements doivent bénéficier d'une organisation matérielle adaptée, en zone spécifiquement aménagée.

- Quant à la personne en charge de ces tâches, elle doit se protéger des souillures et des incidents éventuels au déballage des tubes et pots. Le port de gants, à ce poste, est souvent refusé en raison des difficultés que cela peut occasionner pour l'étiquetage. Dans ce cas, on peut alors recommander le port de gants en nitrile qui s'avèrent totalement compatibles avec la manipulation des étiquettes autocollantes.

Travail sous PSM [18]

- Les indications précises de l'utilisation des PSM sont à définir en fonction des techniques de chaque laboratoire, et donc des risques d'aérosols infectieux

qu'elles génèrent.

- Les caractéristiques de protection apportées par les 3 types de PSM sont rappelées dans le *tableau V*.
- Au-delà de la qualité intrinsèque du PSM et du respect des règles d'installation déjà évoquées, l'opérateur joue un grand rôle dans sa protection – et celle du prélèvement.

Quelques règles générales sont applicables à toutes les circonstances de travail sous PSM :

- s'assurer de la mise en route du système de ventilation avant le début et jusqu'après la fin de la manipulation ;
- être vigilant à ne faire obstacle au flux d'air ni en aval ni en amont des filtres (par la posture de l'opérateur ou des objets mal placés) ;
- ne pas travailler à deux simultanément sous un PSM ;
- ne pas encombrer inutilement le volume de travail, surtout dans sa partie avant ;
- éviter les mouvements brusques dans l'enceinte du PSM ;
- limiter l'importance des sources de chaleur pour ne pas créer de mouvements convectifs ascendants – et, plus particulièrement les becs Bunzen dont la chaleur intense et localisée risque de dégrader les filtres ; leur préférer les appareils piezo-électriques ;
- ne pas projeter de solide ou de liquide sur la face apparente du filtre ;
- prévoir, à l'intérieur des postes, des conteneurs appropriés avec solution désinfectante pour les pipettes... ;
- ne pas faire fonctionner les lampes germicides à ultraviolets pendant les manipulations.

Une attention toute particulière doit être apportée à la décontamination et au nettoyage des PSM ainsi qu'à leur maintenance. Le remplacement des filtres HEPA et/ou de leur pré-filtre éventuel qui nécessite la manipulation de filtres chargés en micro-organismes, doit être effectué par du personnel spécifiquement formé, après décontamination du PSM.

Nettoyage et désinfection au laboratoire

L'objectif du nettoyage est l'élimination rationnelle et aussi complète que possible des salissures sur les surfaces. Menée à bien, cette procédure suppose avant tout que les locaux soient rangés et non encombrés.

Actuellement, pour la désinfection des sols, des paillasses de grandes dimensions et des murs, on utilise principalement des produits à base d'aldéhydes et de peroxydes ; pour les surfaces moins importantes, ce sont généralement des produits à base d'alcool.

Dans tous les cas, le temps de contact nécessaire à

l'action du produit doit être respecté et aucune combinaison improvisée de désinfectants et de nettoyants ne doit être réalisée, au risque de compromettre l'efficacité et d'être dangereux pour l'opérateur.

D'une manière générale, des protocoles doivent être rédigés et affichés, comportant :

- la périodicité et les circonstances des opérations de nettoyage ;
- la désinfection à effectuer ;
- les modalités de la réalisation, incluant les procédés (essuyage, lavage, pulvérisation, trempage...) et les produits à utiliser (matériel, concentration, durée de contact...) ainsi que les équipements de protection individuelle nécessaires ;
- l'identité des personnes chargées de ces prestations (personnels d'entretien, technicien(ne)s...) en précisant les attributions de chacun.

Si l'on souhaite objectiver l'efficacité des mesures de désinfection appliquées en routine, on peut effectuer un contrôle microbiologique des surfaces, pour lequel la méthode la plus efficace semble être celle des empreintes sur plaques, plus performante que la méthode par écouvillonnage.

Quant au contrôle de l'atmosphère par métrologie des bioaérosols, il s'avère de réalisation délicate du fait des problèmes liés à la physique des particules en suspension dans l'air et aux variables de viabilité des agents biologiques [19]. Il ne relève actuellement que de techniques de recherche.

Evacuation des déchets

L'élimination des déchets doit être conforme à la législation et à la réglementation en vigueur. Elle doit être conduite de manière à ne pas compromettre la santé du personnel du laboratoire ni celui chargé de la collecte des déchets et à ne pas polluer l'environnement (GBEA annexe II-6-1) [13].

Les déchets des laboratoires de microbiologie sont, dans la plupart des cas, assimilés réglementairement aux déchets d'activité de soins à risques infectieux et répondent à l'obligation de désinfection ou d'incinération de tous les déchets contaminés [20].

Un point important doit être évoqué concernant les pratiques d'autoclavage. Dans la législation actuelle, l'autoclave ne fait plus partie du matériel obligatoire pour l'équipement du laboratoire. Selon les termes de la circulaire 93-92 du 25 février 1993 du ministère de la Santé : « *l'autoclavage des tissus, cultures et matériels en contact avec ceux-ci, issus des laboratoires de bactériologie, virologie ou de parasitologie permet de limiter la prolifération des germes pathogènes et de prévenir les risques de contamination des personnels manipulant ces produits ; il augmente la sécurité des phases de collecte et de transport ; sans pour autant que les*

Conception des postes de sécurité microbiologiques (PSM) dans le cadre de leurs objectifs de protection

TABLEAU V

CARACTÉRISTIQUES	PSM type I		PSM type II		PSM type III	
	rejet	recyclage	rejet	recyclage	rejet	recyclage
Protection de l'opérateur	<i>oui</i> (par paroi immatérielle) ⁽¹⁾		<i>oui</i> (par paroi immatérielle) ⁽¹⁾		<i>oui</i> (par paroi immatérielle) ⁽¹⁾	
Protection du produit contre les polluants présents dans le laboratoire	<i>non</i> (car absence de filtration de l'air entrant dans le volume de travail)		<i>oui</i> (par circulation d'air filtré dans la zone de travail)		<i>oui</i> (par filtration de l'air introduit dans le volume interne)	
Protection du produit contre la contamination croisée	<i>non</i> (car absence de mouvement d'air unidirectionnel dans le volume de travail)		<i>oui</i> (par mouvement d'air unidirectionnel dans la zone de travail)		<i>non</i> (car ventilation générale de l'ensemble du volume de travail)	
Protection de l'atmosphère générale du laboratoire	<i>oui</i> (car l'air extrait est évacué vers l'extérieur)	<i>oui</i> (par filtre d'extraction HEPA)	<i>oui</i> (car l'air extrait est évacué vers l'extérieur)	<i>oui</i> (par filtre d'extraction HEPA)	<i>oui</i> (car l'air extrait est évacué vers l'extérieur)	<i>oui</i> (par filtre d'extraction HEPA)
Protection de l'atmosphère extérieure	<i>oui</i> (par filtre d'extraction HEPA)	<i>oui</i> (car absence de rejet dans l'atmosphère extérieure)	<i>oui</i> (par filtre d'extraction HEPA)	<i>oui</i> (car absence de rejet dans l'atmosphère extérieure)	<i>oui</i> (par filtre d'extraction HEPA)	<i>oui</i> (car absence de rejet dans l'atmosphère extérieure)

⁽¹⁾ Il s'agit de l'écoulement d'air entrant par l'ouverture.

déchets autoclavés ne soient assimilables à des ordures ménagères au sens de la réglementation sanitaire ». En d'autres termes, l'autoclavage ne dispense pas de l'obligation de désinfecter ou d'incinérer les déchets contaminés.

Quant au conditionnement de ces déchets, il doit se faire dans des emballages à usage unique, balisés par pictogramme, permettant une fermeture temporaire, puis définitive hermétique, sous forme, selon la nature des déchets, de conteneurs ou de fûts plastique ou en carton doublés d'un revêtement étanche [21, 22, 23, 24].

Conduite à tenir en cas d'incident ou d'accident

La conduite à tenir en cas d'accident doit être portée à la connaissance de toute personne intégrant un laboratoire, que ce soit en tant qu'employée ou en tant que stagiaire. Cette procédure doit être affichée dans les secteurs concernés, sous une forme aisément consultable et accessible quels que soient le jour et l'heure.

En cas d'incident générateur d'aérosols présumés dangereux (hors d'une enceinte de sécurité) : quand l'urgence le permet, laisser sédimenter l'aérosol, quitter la pièce, fermer la porte et attendre une demi-heure à une heure avant d'intervenir pour procéder à la décontamination.

En cas de bris ou de renversement de tubes ou autres récipients :

- l'intervention doit être menée par une seule personne munie d'une tenue protectrice et d'une double paire de gants ;
- celle-ci doit couvrir les brisures éventuelles et le

produit répandu de papiers absorbants sur lesquels elle versera doucement de l'eau de Javel (12° chlorométrique diluée au 1/10^e) * ; après quinze minutes, elle procédera au ramassage de façon centripète, en utilisant des pinces pour les débris de verre ; enfin, elle éliminera les déchets, ainsi que la tenue et les gants dans le fût plastique dévolu aux déchets septiques.

En cas d'AES :

- en cas de piqûre ou de coupure, la plaie doit être nettoyée à l'eau et au savon, puis l'antiseptique locale réalisée par trempage d'au moins 5 minutes dans de l'eau de Javel à 12° chlorométriques diluée au 1/10^e, ou du Dakin stabilisé, ou de la Bétadine® dermique ;

- en cas de projection sur des muqueuses, un rinçage abondant doit être effectué au sérum physiologique ou à l'eau ;

- puis la personne accidentée doit consulter immédiatement l'un des médecins dont les coordonnées sont clairement explicitées (et régulièrement mises à jour) sur la procédure affichée.

Prévention médicale

Elle s'adresse à toutes les personnes intervenant en laboratoire, quelles que soient leurs catégories professionnelles et leurs statuts.

Elle comporte un suivi médical par le médecin du travail, incluant des examens obligatoires (à l'embauche, périodiques, en reprise de travail après tout arrêt de plus de 21 jours, accident de travail ou après maternité) et des examens à la demande.

Dans le contexte du risque biologique, certains aspects spécifiques peuvent être retenus [25] :

- la recherche du statut immunitaire vis-à-vis

* Depuis juin 2001, la concentration des présentations commerciales de l'eau de Javel a changé et cette concentration est exprimée en pourcentage de chlore actif, et non plus en degré chlorométrique. L'eau de Javel en flacon de 1 litre est désormais vendue concentrée à 2,6 % de chlore actif, soit 9 degrés chlorométriques, au lieu de 12 degrés chlorométriques auparavant. Les dilutions doivent donc être adaptées en conséquence.



Documents pour le Médecin du Travail
N° 91
3^e trimestre 2002

d'agents infectieux pour lesquels celui-ci peut être documenté par l'anamnèse clinique, le carnet de vaccinations et /ou par la pratique d'examen complémentaires : pratique d'IDR, dosage d'anticorps anti-HBs post vaccinaux hépatite B, sérologie rubéole et toxoplasmose chez les femmes en état de procréer [26]... ;

- la documentation des épisodes infectieux récents ;
- la prescription et /ou la réalisation des vaccinations obligatoires, ou de celles à recommander en fonction de l'exposition ;
- la recherche de toute cause, transitoire ou non, pathologique ou iatrogène, d'immunodépression ;
- la prise en compte des statuts physiologiques particuliers tels que la grossesse ou l'allaitement qui peuvent contre-indiquer certaines expositions (virus tératogènes, foetotoxiques...) ; de telles situations devraient d'ailleurs pouvoir être anticipées, dès le projet de grossesse.

Ces examens débouchent sur un avis d'aptitude, lequel doit intégrer la connaissance précise des risques au poste de travail et des mesures de prévention à observer pour les réduire. Les visites de médecine du travail sont en effet un moment privilégié pour argumenter et expliquer les consignes de sécurité instaurées dans les services [27].

La prise en charge et le suivi après AES constituent l'étape ultérieure de la conduite à tenir déjà évoquée.

Elle incombe conjointement au médecin du travail et aux médecins des urgences et référents spécifiquement désignés.

La prise en charge initiale, la plus rapide possible après les soins initiaux, a pour but l'évaluation du risque lié à l'AES en fonction de :

- la procédure accidentelle (piqûre, coupure, projection ou contact sur peau lésée ou muqueuse) ;
- l'importance de la lésion ;
- la nature du liquide biologique incriminé ;
- le statut sérologique du patient source vis-à-vis des risques viraux VIH, VHC, VHB ;
- le statut immunitaire du personnel accidenté, en particulier vis-à-vis de l'hépatite B.

L'analyse de toutes ces données aboutit à la décision éventuelle d'une chimiothérapie prophylactique antirétrovirale et à la détermination des modalités du suivi ultérieur.

Secondairement, ce recueil de données permet également d'ajuster les mesures de prévention.

Formation des personnels

La formation professionnelle initiale des technicien(ne)s de laboratoire inclut dorénavant un enseignement relatif aux mesures de sécurité. Cet acquis préalable fait en revanche défaut aux personnels non qualifiés, tels que les agents de laverie et de nettoyage, et aux professionnels formés à des fonctions habituellement non exposées au risque biologique, tels que les secrétaires. Ces employés doivent donc bénéficier d'une for-

mation spécifique, dès leur affectation au laboratoire.

Pour tous, des séquences périodiques de formation continue à la sécurité biologique sont souhaitables... et d'ailleurs souhaitées par 54 % à 83 % des personnels qui se sont exprimés à ce sujet dans l'enquête laboratoires INRS-GERES (dont 86 % des médecins et pharmaciens biologistes).

Ce besoin d'actualisation régulière tient à l'évolution des techniques et des risques qui leur sont liés, ainsi qu'à la nécessité de lutter contre un « effet routine » qui tend à banaliser les dangers du quotidien.

Le contenu de ces formations doit permettre d'aborder tant les aspects théoriques que ceux très pratiques et concrets de la sécurité au travail, incluant les conduites à tenir en cas d'accident.

L'implication des personnels dans la rédaction de leurs propres procédures de sécurité, tel que peut y inciter le GBEA, est particulièrement favorable à leur appropriation de ces mesures.

Conclusion

ÉVALUATION DU PROGRAMME DE PRÉVENTION

Le cheminement décrit de l'identification des risques biologiques au laboratoire, leur analyse, puis l'élaboration des mesures de prévention doit être complété par une démarche « en boucle ». L'efficacité de la prévention doit être évaluée par l'inventaire périodique des risques résiduels, voire de nouveaux risques à prendre en compte, et les stratégies de prévention régulièrement réadaptées à l'évolution de ces données.

Maîtriser les risques infectieux au laboratoire n'est pas un projet ponctuel. C'est un état d'esprit à instaurer, un processus continu à entretenir, étayé par des supports réglementaires et l'implication de toutes les parties concernées : encadrement et référents au sein du laboratoire, mais aussi médecine du travail, unité d'hygiène, et Comité de lutte contre les infections nosocomiales (CLIN).

Les situations d'exposition en laboratoires de microbiologie sont extrêmement variées et n'ont pu être abordées de façon exhaustive (animaleries, consignes spécifiques aux isollements de BK, au niveau de sécurité de type 4...). Toutefois, c'est la même démarche d'analyse et de prévention des risques qui est applicable à toutes les situations de travail. Celle-ci peut d'ailleurs, de la même façon, être reproduite pour d'autres risques rencontrés en laboratoire à ne pas méconnaître, tels que les risques chimiques, et la radioactivité.

Remerciements

- aux membres de la Commission laboratoire INRS-GERES pour les deux phases de l'enquête qu'ils ont menées en laboratoires en 1996 et 1998 ;
- à Isabelle Balty, ingénieur au département Risques chimiques et biologiques de l'INRS, pour sa contribution aux recommandations sur le travail sous PSM ;
- au Dr Odile Bajolet, hygiéniste, et aux équipes des laboratoires du CHU de Reims qui ont activement participé à documenter ce travail.

Bibliographie

- [1] 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 et modifiant le Code du Travail. *Journal Officiel* du 6 mai 1994, pp. 6620-6623.
- [2] Directive 2000/54/CE du Parlement européen et du Conseil du 18 septembre 2000 concernant la protection des travailleurs contre les risques liés à l'exposition à des agents biologiques au travail. Directive codifiant et abrogeant la directive 90/679/CEE du 26 novembre 1990 et ses modifications successives. *Journal Officiel* CE du 17 octobre 2000, n° L262, pp. 21-45.
- [3] Arrêté du 18 juillet 1994 fixant la liste des agents biologiques pathogènes, (*Journal Officiel*, 30 juillet 1994), modifié par les arrêtés du 17 avril 1997, (*Journal Officiel* du 26 avril 1997 et du 30 juin 1998). *Journal Officiel* du 22 juillet 1998, pp. 11207-11208.
- [4] Risques biologiques et Prévention. Collection « Les Cahiers de Laboratoire ». In : Le Perreux, Union nationale des techniciens biologistes, 1997, pp. 7-23.
- [5] Association Internationale de sécurité sociale. Maîtrise du risque dans l'emploi des agents biologiques : biotechnologies, génie génétique. Brochure 2 : Travail dans les laboratoires. Paris, INRS, 2000, pp. 32-34.
- [6] Collins C.H. - Laboratory-acquired infections. 3rd ed. Heinemann, Butterworth, 1993, pp. 1-27.
- [7] PIKE R.M. - Laboratory-associated infections : incidence, fatalities, causes and prevention. *Annual Review of Microbiology*, 1979, **33**, pp. 41-66.
- [8] ESTIENNE J., RIO Y., STOESEL J.M. - Les accidents dans les laboratoires des hôpitaux généraux. *Archives des Maladies Professionnelles*, 1977, **38**, pp. 659-668.
- [9] FRANCK C., SAUX M. - Enquête sur les risques infectieux en laboratoires. *Echange travail*, 1987, **33**, pp. 15-17.
- [10] CLAVEL T. ET COLL. - Risques infectieux dans les laboratoires d'analyses médicales. Pré-étude en laboratoires hospitaliers. *Documents pour le Médecin du Travail*, 1997, **72**, pp. 347-355.
- [11] TOUCHE S. ET COLL. - Risques infectieux dans les laboratoires d'analyses médicales. Enquête d'évaluation et d'évolution des pratiques. *Documents pour le Médecin du Travail*, 2000, **83**, pp. 233-239.
- [12] Décret n° 95-1321 du 27 décembre 1995 modifiant le décret n° 76-1004 du 4 novembre 1976, fixant les conditions d'autorisation des laboratoires d'analyses de biologie médicale. *Journal Officiel* du 29 décembre 1995, p. 18856.
- [13] Arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale. *Journal Officiel* du 11 décembre 1999, pp. 18441-18452.
- [14] Groupe d'Etude sur les Risques d'Exposition des Soignants aux agents infectieux. Guide des matériels de sécurité. Paris, Ministère de l'Emploi et de la Solidarité, 1999-2000, 48 p.
- [15] Arrêté du 13 août 1996 fixant les mesures techniques de prévention, notamment de confinement, à mettre en œuvre dans les industries et les laboratoires de recherche et d'enseignement où les travailleurs sont susceptibles d'être exposés à des agents biologiques pathogènes. *Journal Officiel* du 7 septembre 1996, pp. 13379-13382.
- [16] CHIPPAUX-HYPPOLITE C., CHIPPAUX A.- Prévention dans les laboratoires. Les niveaux de confinement. *T'Hop - Travail Santé à l'Hôpital*, 1995, **2**, pp. 7-8.
- [17] TOUCHE S., PARADIS P. - Prévenir le risque infectieux en laboratoire. *Travail et Sécurité*, 1991, **439**, pp. 586-589.
- [18] CORNU J. C. - Les postes de sécurité microbiologique. Description, évaluation des performances, exploitation. *Cahiers de Notes Documentaires - Hygiène et Sécurité du Travail*, 1^{er} trimestre 1997, **166**, pp. 69-89.
- [19] CHOUDAT D., FABRIES J.E. - Évaluation des risques liés aux expositions à des agents biologiques. In : Les agents biologiques, thème n° 3, XXIV^e Journées nationales de médecine du travail, Paris, 11-14 juin 1996. *Archives des Maladies Professionnelles*, 1997, **58** (4), pp. 332-334.
- [20] Décret n° 97-1048 du 6 novembre 1997 relatif à l'élimination des déchets d'activités de soins à risques infectieux et assimilés et des pièces anatomiques et modifiant le Code de la Santé publique (2^e partie : décrets en Conseil d'Etat). *Journal Officiel* du 18 novembre 1997, pp. 16675-16676.
- [21] Circulaire DH/SI 2-DGS/VS 3 n° 554 du 1^{er} septembre 1998 relative à la collecte des objets piquants, tranchants souillés. *Bulletin Officiel Solidarité, santé* n° 93/39, 10 octobre 1998, pp. 135-139.
- [22] Arrêté du 7 septembre 1999 relatif aux modalités d'entreposage des déchets d'activités de soins à risques infectieux et assimilés et des pièces anatomiques. *Journal Officiel* du 3 octobre 1999, pp. 14685-14686.
- [23] Arrêté du 7 septembre 1999 relatif au contrôle des filières d'élimination des déchets d'activités de soins à risques infectieux et assimilés et des pièces anatomiques. *Journal Officiel* du 3 octobre 1999, pp. 14686-14691.
- [24] La prévention des risques à l'usage des directeurs de laboratoires - conditions de travail. Guide mode d'emploi. INSERM, Paris, 1999, pp. 97-101.
- [25] TEYSSIER-COTTE C., LEPRINCE A. - Prévention des risques biologiques. In : Les agents biologiques, thème n° 3, XXIV^e Journées nationales de médecine du travail, Paris, 11-14 juin 1996. *Archives des Maladies Professionnelles*, 1997, **58** (4), pp. 334-335.
- [26] Directive 92/85/CEE du conseil du 19 octobre 1992, concernant la mise en œuvre de mesures visant à promouvoir l'amélioration de la sécurité et de la santé des travailleuses enceintes, accouchées ou allaitantes au travail (dixième directive particulière au sens de l'article 16 paragraphe 1 de la directive 89/391/CEE). *Journal Officiel* CE n° L 348, 28 novembre 1992, pp. 1-8.
- [27] DENIS F., MOULIN M., DOMART M.. - Risques infectieux au laboratoire et suivi médical du personnel. *T'Hop - Travail Santé à l'Hôpital*, 1995, **2**, pp. 2-4.

INRS, Institut national de recherche et de sécurité, 30 rue Olivier-Noyer 75 680 Paris cedex 14

Tiré à part de *Documents pour le Médecin du Travail* 3^e trimestre 2002, n° 91 - TC 89 - 300 ex. - N CPPAP 2094 AD/PC/DC du 16/04/87.
Directeur de la publication : J.L. Marié - ISSN 0339-6517 - ISBN 2-7389-1002-5.