

Décryptage

BIORÉACTEURS: ATTENTION AU RISQUE BIOLOGIQUE

Inhérents aux procédés de production biotechnologique, les bioréacteurs sont présents dans de nombreux secteurs d'activité. Le risque biologique est l'un des principaux risques associés à ces dispositifs. De quoi parle-t-on? Quelles sont les opérations concernées? Quelles actions de prévention mettre en place? Cet article fait le point.

BIOREACTORS: BEWARE OF BIOLOGICAL RISKS - Inherent to biotechnology production processes, bioreactors are present in many sectors of activity. Biological risks are some of the main risks associated with such apparatus. What are we talking about? What operations are concerned? What prevention actions should be put in place? This article addresses these questions.

CHRISTINE
DAVID
INRS,
département
Expertise
et conseil
technique

Avec l'essor des biotechnologies, de plus en plus d'entreprises mettent à profit, dans leurs techniques de production, les propriétés de très nombreux organismes vivants: cellules animales, cellules humaines, cellules végétales, cellules d'insectes, micro-algues, bactéries, levures, moisissures, virus, parasites... Ces organismes sont cultivés pour eux-mêmes ou pour obtenir des molécules d'intérêt: antibiotiques, hormones, protéines, antigènes, toxines, enzymes, alcools, acides organiques, hydrogène, etc. Le point commun à toutes ces bioproductions réside dans la culture en masse de ces organismes dans des enceintes closes appelées bioréacteurs. Ces derniers se retrouvent ainsi dans de nombreux secteurs d'activité, principalement la santé, l'agroalimentaire et la chimie. L'emploi des bioréacteurs soulève de nouvelles questions quant à la santé et la sécurité des salariés concernés.

Qu'est-ce qu'un bioréacteur?

Ces dispositifs possèdent une enveloppe étanche, simple ou double, constituée de verre, d'aciers inoxydables ou de polymères. En cours de fonctionnement, le milieu de culture liquide est souvent agité par mouvement mécanique, par apport de liquide ou de gaz et régulièrement contrôlé pour s'assurer de la bonne conduite du procédé. À la suite de ces contrôles, le milieu est ajusté pour atteindre les valeurs optimales de différents paramètres comme la température, le pH, l'oxygène, la pression (pression atmosphérique, surpression)... Enfin, selon le cas, le procédé peut nécessiter des conditions d'asepsie, ajoutant des étapes de stérilisation par injection de vapeur d'eau dans l'ins-

tallation ou par filtration des intrants (Cf. Figure 1). Les bioréacteurs peuvent générer de nombreux risques (Cf. Encadré 1), parmi lesquels des risques liés aux agents biologiques potentiellement pathogènes et susceptibles de provoquer des infections (multiplication de l'agent biologique dans le corps), des allergies (réaction de défense excessive du corps), des intoxications (causées par des toxines produites par l'agent biologique), voire des cancers chez le salarié. Ces agents biologiques sont classés en quatre groupes de risque croissant, de 1 à 4 (art. R.4421-3 du Code du travail). Les organismes génétiquement modifiés sont classés dans quatre autres groupes (de I à IV) selon le danger croissant

ENCADRÉ 1 LES AUTRES RISQUES PROFESSIONNELS

Outre les risques biologiques, l'utilisation de bioréacteurs expose le personnel aux produits chimiques qui sont ajoutés dans le bioréacteur en phase de production ou de nettoyage. Les gaz produits par le bioréacteur peuvent de plus engendrer des risques d'asphyxie ou d'incendie/explosion. Enfin, il existe des risques mécaniques, des risques de brûlures, surtout lors de la phase de stérilisation, des risques liés à l'exposition au bruit et au travail en horaires décalés. En effet, les cellules étant des organismes vivants, elles nécessitent une surveillance et des apports en nutriments de jour comme de nuit.

qu'ils représentent pour l'homme et l'environnement (art. D. 532-2 du Code de l'environnement).

Les phases à risque

À quel moment les opérateurs travaillant sur ces bioréacteurs peuvent-ils être exposés au risque biologique? L'ensemencement constitue la première étape critique. Ce procédé consiste à introduire l'*inoculum*, liquide contenant les organismes vivants, au moyen d'une seringue perçant un orifice muni de caoutchouc (le *septum*) ou par transfert en circuit fermé à l'aide d'une pompe aspirant l'*inoculum*.

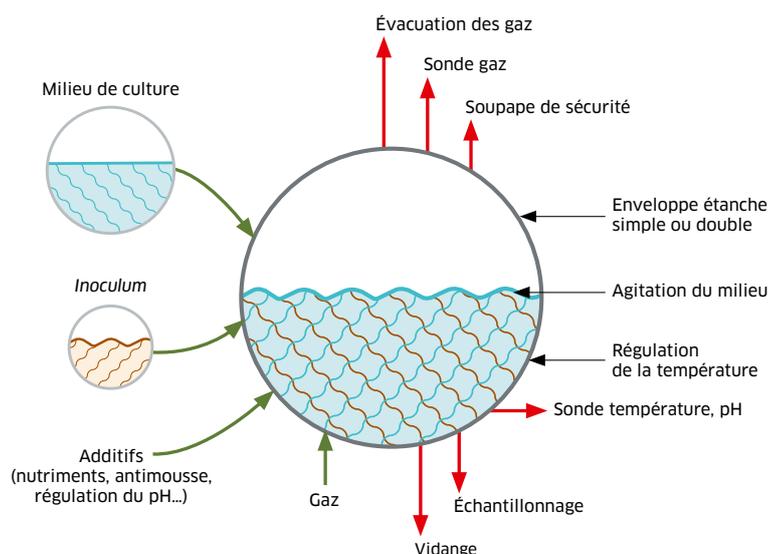
Lors de l'ensemencement à l'aide d'une seringue, l'opérateur risque de se piquer. Le *septum* peut également être source de contamination par contact, si un peu d'*inoculum* s'y est déposé ou s'il fuit après plusieurs perforations. En cas de rupture du confinement au point d'ensemencement (matériel usagé fragilisé, mauvais montage des périphériques, bris du récipient de l'*inoculum*, etc.), les opérateurs peuvent aussi être exposés par contact avec l'*inoculum*, par coupure avec le verre brisé ou inhalation de bioaérosols.

La deuxième étape critique concerne l'échantillonnage. Elle consiste à surveiller l'évolution de la composition du milieu de culture pour vérifier le bon développement des organismes, contrôler d'éventuelles contaminations du milieu par d'autres organismes et s'assurer que la souche initiale n'a pas évolué au cours des générations. La prise d'échantillon peut se faire par vanne (à piston, à membrane), *septum* ou tube plongeant. Les risques professionnels sont les mêmes que ceux évoqués pour l'ensemencement du bioréacteur.

À ceux-là s'ajoutent les risques d'inhalation ou de contact avec les agents biologiques, lorsque la prise d'échantillon se fait à l'aide d'une vanne dans un récipient ouvert. Mais ce type d'échantillonnage ne doit se faire que si les organismes cultivés ne présentent pas de danger pour l'homme et l'environnement.

Une troisième étape doit faire l'objet d'une vigilance particulière: la récolte des organismes vivants. Selon la nature du produit fini et le danger de l'organisme cultivé, elle se fait de façon stérile ou non. À l'ouverture de la vanne de vidange, le milieu liquide s'écoule à l'intérieur de canalisations vers les autres étapes du procédé. En ce qui concerne les petits volumes, la vidange manuelle peut se faire en déversant le contenu du bioréacteur dans un récipient ouvert (si l'agent biologique n'est pas pathogène) ou dans un récipient clos, au moyen d'un système assurant le confinement des agents pathogènes.

Lors de la vidange en système ouvert, les opérateurs sont exposés aux produits chimiques et aux agents biologiques par contact, projection et inhalation d'aérosols et de gaz. Cette procédure



↑ FIGURE 1 Schéma fonctionnel d'un bioréacteur.

ENCADRÉ 2

FICHE AGENT BIOLOGIQUE

Il est recommandé de disposer, pour chaque agent biologique, des informations sur :

- le danger ;
- le mode de transmission ;
- le niveau de confinement dans lequel il doit être manipulé ;
- les EPI adaptés à sa manipulation ;
- la conduite à tenir en cas d'exposition du personnel (les éventuels traitements indiqués, le numéro de téléphone de la personne ressource...);
- les mesures à prendre en cas de dispersion accidentelle (techniques de désinfection des surfaces, moyens de protection de l'environnement) ;
- la procédure d'élimination des déchets...

ne doit s'appliquer que pour des souches non pathogènes.

Les actions de prévention

Les caractéristiques de la souche cultivée doivent être parfaitement connues, tant pour la production que pour la santé des personnes. Il est recommandé de rédiger une « Fiche agent biologique » regroupant les différentes informations utiles à la prévention des risques liés à chaque agent biologique manipulé (Cf. Encadré 2).

À chaque étape, il faut tout d'abord vérifier le bon état du matériel assurant le confinement des microorganismes pathogènes (conteneur de l'*inoculum*, système d'inoculation). Le système d'inoculation doit, pour sa part, être installé à bonne hauteur (pas trop bas) pour éviter toute pression hydrostatique provoquant des fuites et des aérosols. Il doit également être équipé d'un manomètre, dont les indications doivent être visibles du point d'ino-





Un bioréacteur (fermenteur) utilisé pour la fabrication de la bière.

© Gaël Kerbaol/INRS

ENCADRÉ 3

CONDUITE À TENIR EN CAS DE DÉVERSEMENT DE CULTURE

Les étapes décrites ci-dessous sont à considérer selon la pathogénicité de la souche et le volume déversé :

- mettre les EPI adaptés;
- identifier l'origine du déversement;
- contenir la fuite ou le déversement;
- récupérer le fluide par aspiration, gravité ou absorption (matériau absorbant);
- inactiver les fluides récupérés;
- récupérer le verre brisé à l'aide de gants épais à longue manchette, une raclette, un emballage pour Dasri résistant aux perforations;
- nettoyer et désinfecter les surfaces souillées de façon centripète;
- placer les déchets contaminés dans des emballages pour Dasri.

culcation par l'opérateur, afin de pouvoir contrôler à tout moment la pression de l'ensemble. La norme NF EN 13092 recommande de régler l'alarme de surpression à 50 kPa.

Lors de l'ensemencement à l'aide d'une seringue, il est important de ne pas recapuchonner l'aiguille à la main et d'utiliser des seringues sécurisées, immédiatement jetées après usage dans des emballages pour les déchets d'activités de soins à risques (Dasri). Après sa perforation, le *septum* doit être désinfecté à l'aide de produits biocides compatibles avec le matériau, puis recouvert jusqu'à la prochaine opération. Afin de limiter la dispersion des micro-organismes pathogènes, il convient toutefois de privilégier les méthodes d'ensemencement par transfert en circuit fermé.

Le système d'échantillonnage, quant à lui, doit disposer de moyens de fermeture en cas de dysfonctionnement et ne doit pas se désolidariser facilement. Il convient en outre de désinfecter, à la vapeur ou chimiquement, les parties qui ont été en contact avec les micro-organismes pathogènes. En cas de déversement accidentel lors de la vidange, une procédure écrite doit préciser la conduite à tenir qui diffère selon la pathogénicité de la souche et le volume déversé (Cf. Encadré 3).

Si le récipient contenant des souches pathogènes doit sortir de la salle du bioréacteur, il est transporté dans un emballage secondaire rigide, fermé, étanche, prévu à cet effet, muni de matière absorbante pouvant retenir le volume du récipient en cas de déversement. Un emballage tertiaire fermé est utilisé pour le transport entre bâtiments. Le pictogramme « Risque biologique » est apposé sur l'emballage extérieur. Si la souche pathogène emprunte une voie publique, le transport se fera en respect des dispositions de l'arrêté du 29 mai 2009 modifié, relatif aux transports de marchandises dangereuses par voies terrestres (dit « arrêté TMD »).

Enfin, le personnel doit se protéger en portant des vêtements couvrants, des gants et d'autres EPI, choisis en fonction du mode de transmission de l'agent biologique pathogène (visières, lunettes-masques, appareils de protection respiratoire). ●

POUR EN SAVOIR +

- *Les bioréacteurs, risques et prévention.* INRS, ED 6258.
- *Dossier Travail & Sécurité, n°779.* Janvier 2017.