



RONÉOS DFGSP2 2020 - 2021

UE PL2.1 : ATGB 3

Date : 03/09/20

Plage horaire : 8h25-9h25

Enseignant : MARTIN Océane

N°ISBN : 978-2-37366-076-0

Ronéistes

HEUILLET Estelle – heuilletestelle@gmail.com

POUGHEON Laura – laura.pougheon@yahoo.fr

Risque biologique 1

Plan du cours :

I - Risque biologique

A - Définitions

1. Risque biologique
2. Micro-organismes

B-Les différents agents biologiques

1. Les bactéries
2. Les virus
3. Les champignons
4. Les prions

C-Qui évalue le risque?

D-Comment ?

II- Situation de risques biologiques

A- Au laboratoire

B-Exposition aux liquides biologiques

C-Prévention

Objectifs du cours :

- Définition du risque biologique
- Différence entre danger et risque
- Savoir distinguer les différents agents biologiques
- Déterminer les éléments nécessaires afin d'évaluer un risque
- Conduite à tenir en cas d'accidents
- Spécificité sur AES
- Définir les agents biologiques les plus souvent en cause
- Savoir adopter les bonnes pratiques spécifiques

I. Le risque biologique

A. Définitions

1. Risque biologique

Le risque biologique résulte de la confrontation entre un **organisme** et des **agents biologiques susceptibles** de rentrer en contact avec lui avec pour conséquences de provoquer une pathologie.

Il faut distinguer le danger du risque. En effet, le danger c'est quelque chose qui a le **potentiel** de causer un dommage. Le risque, c'est une **probabilité** qu'un danger cause un dommage.

Par exemple, un requin dans la mer est un danger alors que nager avec un requin est un risque.

Les agents biologiques peuvent contaminer l'Homme de façon **directe** ou **indirecte** via des cellules ou des animaux infectés par des agents biologiques.

Les agents biologiques sont partout. Ils sont présents dans l'environnement (eau, air et sol), dans les autres êtres vivants et aussi dans les différents milieux de travail telle que l'industrie pharmaceutique. D'où la nécessité de connaître les risques. Ils peuvent avoir différents effets sur la santé, la plupart sont inoffensifs mais peuvent aussi provoquer des infections, des allergies, des effets toxiques et certains cancers.

Les agents biologiques sont dans la majorité des cas des bactéries et des virus. On peut trouver des bactéries parasites (Typhus), nommées Rickettsie, des Micromycètes (champignons), des Chlamydiae, d'autres bactéries parasites puis enfin des Parasites.

2. Micro-organismes

La plupart du temps, les agents biologiques sont des micro-organismes c'est à dire qu'ils sont microscopiques invisibles à l'oeil nu. Ils ont un rôle essentiel dans l'équilibre de l'écosystème. On a besoin de différents outils pour les voir. Par exemple, on peut observer certaines bactéries au microscope optique alors que le microscope électronique sera essentiel pour visualiser les virus. Enfin, les rayons X et la RMN sont utilisés pour observer des protéines, molécules et atomes.

On peut séparer les micro-organismes en deux catégories:

- les **acellulaires**: les virus et potentiellement les prions
- les **cellulaires**: les procaryotes (bactéries et archées) et les eucaryotes (champignons et parasites).

Voici les différentes caractéristiques qui distinguent les procaryotes des eucaryotes :

B. Les différents agents biologiques

Procaryotes	Eucaryotes
0.1 - 10 μm	2 - 100 μm
Pas de « vrai » noyau	Présence membrane nucléaire
1 chromosome	Plusieurs chromosomes
Pas d'organites	Mitochondries, chloroplastes, appareil golgi, réticulum endoplasmique
Division	Mitose

1. Les bactéries

Elles sont une forme de vie simple (primitive). Ce sont des êtres unicellulaires, sans noyaux. Elles mesurent entre 1 à 10 μm . Elles ont un grand pouvoir d'adaptation tels que les mutations et les transferts génétiques (plasmides). De plus, elles ont des exigences nutritionnelles simples, cultivables sur gélose, c'est à dire qu'elles ont un pouvoir de multiplication considérable. Enfin, leur rôle écologique est fondamental dans la transformation de la matière et elles constituent une grande partie de la biomasse terrestre.

La plupart constituent le microbiote (flore bactérienne) notamment au niveau buccale (*Streptocoques*), intestinale, des fosses nasales (*Staphylocoques* et *Pneumocoques*) la région vaginale (*Lactobacillus*), le gros intestin: région du corps la plus riche en bactéries telles que *Colibacilles*, l'estomac (*Helicobacter Pylori*) et la peau. A priori, les poumons et la vessie sont les seuls organes stériles, ainsi que le sang, sauf pathologies. Certaines ont un pouvoir pathogène tel que E.coli entérohémorragique.

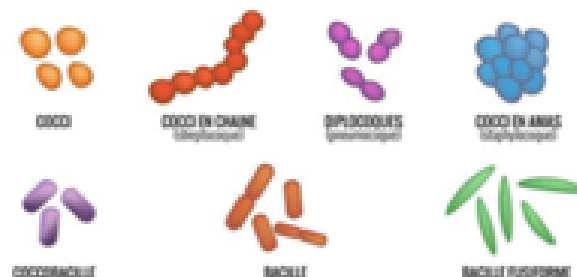
C'est pourquoi on utilise des traitements antibiotiques adaptés sauf lors d'une résistance de la part des bactéries, en général elles y sont sensibles. Les antibiotiques ciblent différentes parties des bactéries comme la synthèse de la membrane, la synthèse protéique, de l'ADN... Ils agissent directement sur la bactérie.

Par exemple, on peut évaluer l'efficacité d'un antibiotique sur antibiogramme. En effet, si au niveau des différents disques recouverts d'antibiotiques on remarque une croissance au niveau de la bactérie, alors il y a résistance.

Les bactéries ont différentes morphologies; on distingue les **coccis** des **bacilles**. De plus, on les classe selon leur forme et leur regroupement, c'est à dire leur manière de s'assembler. Au microscope optique, les coccis sont généralement en chaîne: on peut alors supposer un streptocoque. En revanche, les coccis en amas peuvent témoigner d'un staphylocoque.

L'observation au microscope optique associée à une coloration de Gram nous permet de les visualiser: on aura des bactéries Gram + en violet ou Gram - en rose en fonction de la paroi bactérienne.

Voici les différentes bactéries que l'on peut observer:



2. Les virus

Aujourd'hui la définition n'est pas très claire, effet on les détermine par leurs propriétés. Ce sont des objets bio particuliers, ils ne sont pas vivants. Ce sont des entités nucléo protéiques (invisibles au microscope optique) et sont subcellulaires (les plus petits $0,02\mu\text{m}$ /bactéries $1\mu\text{m}$). Ils sont soit composés d'ADN soit d'ARN et protéines. De plus, ils ont une capacité de **réplication**, et non de division comme les bactéries ou les cellules eucaryotes.

Ils dépendent de cellules vivantes; ils ne peuvent pas se répliquer en dehors de cellules hôtes. Ainsi, ils vont dévier le métabolisme cellulaire des cellules qu'ils infectent. C'est pourquoi on dit que les virus ont une grande capacité évolutive (mutations...).

A propos de la vaccination:

Il faut savoir que les antibiotiques sont inefficaces contre les virus car les cibles sont différentes. En effet, les virus n'ont pas de paroi et ne produisent pas d'enzymes ou de protéines à la différence des bactéries. Ils sensibilisent le système immunitaire en cas d'infection.

Il existe donc des vaccins efficaces contre les bactéries tels que *Haemophilus influenzae B*, méningocoques C, pneumocoques...

Le tableau aborde les différences entre bactéries et virus:

Caractéristiques	Bactérie	Virus
Unités de structure	Cellule	Virion (particule virale)
Acides nucléiques	2 types : ADN et ARN	1 type : ADN ou ARN
Ribosomes	+ (traduction)	-
Production d'énergie	+	-
Systèmes enzymatiques de biosynthèse	+	-
	(vie autonome*)	(intracellulaire obligatoire)
Reproduction	Division à partir de tous les constituants cellulaires	Réplication à partir du seul matériel génétique
Croissance	+	-
	Augmentation de tous les constituants	Structure définitivement organisée après synthèse des constituants

ZOOM sur le SARS Cov-2 et la COVID-19

Nommé SARS Cov-2, le virus du COVID-19 est un virus à ARN de mutations fréquentes. Le fait qu'il soit enveloppé nous permet de le fragiliser rapidement, par la désinfection par exemple. Il fait parti de la famille des *Coronaviridae* (famille de virus très fréquents). Toutes les familles de virus finissent par "ae".

La transmission interhumaine se fait via les gouttelettes, éternuements, toux et par manuportée. C'est pourquoi nous sollicitons les gestes barrières.

La maladie de la COVID-19 se caractérise par une incubation de 3 jours à 5 jours voire jusqu'à 14 jours. Il s'agit d'une infection respiratoire qui peut se présenter sous formes de symptômes digestifs et oculaires (conjonctivite). La plupart du temps il s'agit de formes asymptomatiques (25%-50%) mais aussi de formes sévères (17%-23%) voire létales (2%-3%), notamment chez les personnes âgées, obèses et diabétiques.

L'Agence Régionale de Santé Nouvelle-Aquitaine comptabilise le nombre de nouveaux cas de COVID-19 diagnostiqués par une PCR SARS-CoV-2 survenus sur les 7 derniers jours pour 100 000 habitants. Actuellement, dans la région le nombre d'infectés serait de 1973 cas possibles par semaine.

3. Les champignons (Mycètes ou *Fungus*)

Ils sont eucaryotes, unicellulaires (levures: *Candida*) ou pluricellulaires (moisissures : *Aspergillus*, *Penicillium*)

Ils mesurent 1 à 100µm et produisent possiblement des spores disséminés facilement dans l'environnement. La dissémination est un terme important pour évaluer le risque biologique.

Concernant les parasites, les Protozoaires sont des eucaryotes unicellulaires, doués de mouvement. On a par exemple *Plasmodium* qui provoque le paludisme. On sépare les protozoaires et les métazoaires dont les Plathelminthes font partie du groupe des Helminthes, qui sont des eucaryotes multicellulaires et sont des vers, ronds ou plats. Par exemple, les ascaris sont des vers visibles à l'œil nu.

4. Les prions

Il s'agit du sigle modifié de protéines infectieuses. Ce sont des agents infectieux de nature protéiques, ne comportent pas d'acides nucléiques (pas d'ADN ou d'ARN). C'est juste la protéine qui va changer de conformation et qui va induire une pathologie. Les prions sont donc surtout connus pour d'importantes séquelles neurologiques tel que l'Encéphalopathie Spongiform Bovine (ESB), chez la vache et chez l'Homme Creutzfeld-Jacob, il s'agit d'une maladie neurologique.

C. Qui évalue le risque?

C'est l'INRS qui s'en charge, Institut National de Recherche et de Sécurité pour la prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles. Ils sont appliqués aux établissements dans lesquels la nature de l'activité peut conduire à exposer les travailleurs à des agents biologiques.

Les différents éléments qui entrent en considération dans l'évaluation du risque sont:

- **Pathogénicité:** pouvoir de provoquer une maladie car tous les agents biologiques ne sont pas pathogènes.
- **Stabilité biologique**
- **Mode de transmission**
- **Endémicité:** capacité pour une maladie soit de régner constamment, soit de revenir à des époques déterminées. Par exemple on parle de pic épidémiques telle que la grippe en hiver, normalement le Corona n'en fait pas parti.
- Possibilité d'une thérapeutique efficace et/ou d'une **vaccination**.

L'INRS effectue un classement des agents biologiques. Sont considérés comme des agents biologiques pathogènes les agents des **groupes 2, 3, et 4**. Tout ce qui est inoffensif, non pathogène fait parti du **groupe 1**.

D. Comment ?

Le tableau ci dessous est important à connaître car il résume les différents risques en fonction du groupe auquel appartient le l'agent biologique.

Critère	GROUPE 1	GROUPE 2	GROUPE 3	GROUPE 4
Pathogène chez l'homme	Non	Oui probable	Oui Maladie grave	Oui Maladie très grave
Dangereux pour l'opérateur	Sans objet	Oui Modérément	Oui Risque élevé	Oui Risque très élevé
Propagation	Sans objet	Peu probable	Possible	Risque élevé
Existence d'une prophylaxie ou d'un traitement	Sans objet	Oui	Oui généralement	Non
Exemples	<i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i> non pathogène	Virus de la rougeole <i>Clostridium tetani</i>	VIH, VHB <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Virus Ebola Virus de la variole

Remarque: En général, les bactéries font partis du groupe 2, 3. Par contre, les virus peuvent intégrer le groupe 4 telles que les fièvres hémorragiques (Ebola, Lassa...).

Les parasites font, la plupart du temps, partis du groupe 3. On retrouve par exemple les Echinococcus.

Enfin, concernant les champignons, ils intègrent les groupes 2 et 3.

Voici un schéma qui récapitule la **chaîne de transmission**:



Il faut, en tant que professionnels, qu'on puisse se protéger. Nous devons donc qu'on choisir le bon niveau de sécurité en fonction du groupe de l'agent biologique de 1 à 4. Il faut s'adapter au niveau :

- de la conception du local : L1 à L4
- des équipements spéciaux de confinement : Poste de Sécurité Microbiologique (PSM) qui permet de protéger soit la manipulation, le manipulateur ou l'environnement (cf ED)
- des Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL) incluant une gestuelle bien maîtrisée.

Les voies de contaminations sont importantes à connaître:

- **la voie aérienne = respiratoire = pulmonaire** qui est la principale voie de

contamination. On peut être contaminé par celle-ci de différentes manières, soit par :

- des aérosols (particules solides ou liquides très légères qui sont respirées avec l'air) ou poussières pouvant transporter des micro-organismes.
- homogénéisations (broyage, vortexage, mixage), centrifugations, flambages d'ensemencement.

La prévention de cette voie se fait en bouchant ou scellant les tubes, en manipulant sous des PSM ou en utilisant des ensemencement à usage unique.

- **la voie conjonctivale oculaire** par la projection de matériel contaminé dans l'œil ou par

des aérosols. La prévention passe par le port des lunettes.

- **la voie cutanée, percutanée, cutanéomuqueuse** par projections, blessures, coupures ou morsures ou via l'utilisation de seringues, objets tranchants, pipettes Pasteur... Ce risque peut être prévenu pour les piqûres et les coupures en utilisant des boîtes anti-piqûres et en privilégiant du matériel plastique à usage unique ; on porte également des gants adéquats et on fait attention aux lésions cutanées (griffures, morsures, dermatoses ou excoriations).

- **la voie digestive, orale** par pipetage à la bouche, alimentation, tabagisme dans les laboratoires ou par une mauvaise hygiène des mains, port des mains, doigts ou d'objets (stylos) à la bouche, ongles rongés. La prévention se fait en utilisant des pipettes automatiques et il faut également ne pas fumer, boire, se maquiller dans les laboratoires et on laisse la blouse aux vestiaires pour aller manger.

II. Situation de risques biologiques

A. Au laboratoire

Il faut réussir à localiser le danger de risques biologiques : dans les prélèvements, dans les cultures, sur du matériel ou de la vaisselle souillée, sur les paillasse, dans les déchets ou lors d'utilisation d'appareils. En fait, le danger est partout.

Voici des exemples d'accident et conduite à tenir :

- Incident matériel : récipient cassé, contenu à risque biologique répandu
 - 1) Porter des gants, éventuellement un matériel de protection complet
 - 2) Nettoyer l'aire contaminée avec un désinfectant en réalisant des cercles concentriques allant du moins contaminé au plus contaminé = de l'extérieur vers l'intérieur
 - 3) Les éléments contaminés seront jetés dans la poubelle adéquate
 - 4) Définir précisément l'aire de contamination (si nécessaire, baliser la pièce contaminée et empêcher son accès)

En résumé, on adapte les gestes en fonction du groupe auquel appartient l'agent.

- Accident corporel après exposition à des agents infectieux ou des débris animaux
 - 1) Laver puis désinfecter immédiatement toute souillure
 - 2) Pour toute blessure, coupure, piqûre, éraflure, projection de liquide au niveau des yeux et des muqueuses, appliquer 2 mesures d'urgence :
 - › Nettoyage abondant à l'eau physiologique (dispositif d'urgence disponible) et au savon puis désinfection cutanée avec Bétadine, eau de Javel au 1/10ème, Dakin
 - › Identification de la provenance du matériel éventuellement contaminant
 - 3) Consulter le médecin de prévention

B. Exposition aux liquides biologiques: le sang

Les spécificités d'Accident d'Exposition au Sang (AES) sont très réglementées notamment pour les personnels travaillant dans les hôpitaux ou les structures de soin. La définition d'un AES est tout contact percutané (piqûre, coupure), muqueux (œil, bouche) ou sur peau lésée (eczéma, plaie) avec du sang ou avec un produit biologique contenant du sang. Dans un contexte d'activité de soins directs ou indirects (labo, déchets, stérilisation).

Il y a des exigences réglementaires définies par le Code du travail et le Code de santé publique pour les établissements de soin qui recommande :

- de respecter des précautions standards
- vacciner tous les personnels contre l'hépatite B
- mettre en place un système de surveillance des AES
- informer et former sur les gestes à risque
- un choix rationnel de matériel
- une prise en charge rapide des AES

La majorité du personnel concerné sont ceux des domaines paramédical et médical. De plus, la nature de l'exposition est dans la majorité des cas dû à des piqûres, projections et coupures.

La porte d'entrée qui est en général un accident percutané peut être :

- **actif** (intrusion) ou **passif** (contact via peau ou muqueuse lésée)
- **artificiel** (par blessure) ou **naturel** (par projection sur les muqueuses)

La dangerosité varie selon :

- la durée de contact
- la profondeur de la blessure
- l'inoculum de la source contaminante
- l'agent pathogène incriminé

Il s'agit donc de situations de risques très encadrées.

Les agents contaminants sont essentiellement de nature virale:

- VIH 1 et 2 : virus de l'immunodéficience humaine
- VHB et VHC : virus des hépatites
- Virus des fièvres hémorragiques (Ebola, Lassa..)

D'autres agents microbiens peuvent être l'origine d'une contamination sanguine comme des parasites (paludisme), des bactéries (brucellose). Ce sont principalement des virus.

Ces AES ont une obligation de signalement via le centre de coordination de lutte contre les infections (C.CLIN) avec des fiches de recueil en lien avec le service de médecine du travail signalant : la victime, les circonstances de l'accident, les conditions de préventions immédiates, le statut infectieux du patient source et la réaction à l'accident. En résumé, le signalement est un gros dossier à remplir, très réglementé.

C. Prévention: mieux vaut prévenir que guérir !

En fonction du groupe de l'agent biologique (1,2,3 et 4) nous aurons différents suivis. En effet, les moyens de prévention et de suivi seront beaucoup plus importants pour les groupes 3 et 4 avec notamment des examens médicaux d'aptitude pour être sûr que la personne est apte à utiliser des pathogènes potentiellement très dangereux.

Les pratiques générales à appliquer et dispenser sont :

- l'hygiène rigoureuse des mains
- utiliser du matériel adapté : matériel à usage unique, pipetage automatique
- prévoir un conditionnement et un mode de conservation adapté aux micro organismes (congélation)
- étiqueter clairement et systématiquement tout matériel utilisé (agents pathogènes)
- prévoir un protocole et souligner les moments délicats pour la sécurité
- connaître la provenance des prélèvements biologiques

Les pratiques spécifiques sont :

- habillement
- autorisation d'accès : nom, téléphone
- balisage
- décontamination (antiseptiques et désinfectants)
- formation : connaissance du microorganisme manipulé
- suivi médical : visite médicale annuelle
- vaccination obligatoire (hépatite B, tétanos)
- description de la nature des travaux effectués
- vigilance particulière pour les femmes enceintes

Les gestes à adopter au laboratoire ou en TP sont importants à retenir :

- désinfecter la paillasse
- se laver les mains
- ne rien mettre à la bouche (stylo, doigts...)
- cheveux attachés
- si bec Bunsen : attention aux manches de blouses, les éteindre en fin de manipulation
- trier correctement ses déchets
- désinfecter la paillasse, se laver les mains
- Trier correctement ses déchets