

## Chapitre 12

### Pratiques de sécurité standard dans le laboratoire de microbiologie

Le personnel de laboratoire travaillant en contact avec des agents infectieux peut contracter des infections par le biais d'accidents ou d'incidents ignorés. Le degré de risque dépend de la virulence de l'agent biologique concerné et de la résistance de l'hôte. Les infections contractées dans le laboratoire interviennent lorsque, par inadvertance, des germes sont avalés, inhalés ou introduits dans les tissus. L'ingestion accidentelle est le plus grand risque avec des pathogènes intestinaux comme *Shigella* et *E. coli* O157:H7. Les pratiques de bio-sécurité de niveau 2 (BSL-2) doivent être appliquées pour tout travail avec des organismes présentant des risques pour le personnel et l'environnement. Ces pratiques indiquent que :

- Le personnel de laboratoire dispose d'une formation spécifique sur la manipulation des agents pathogènes et travaille sous la direction de chercheurs compétents ;
- L'accès au laboratoire est limité lors de la réalisation des manipulations ;
- Des précautions extrêmes sont prises en ce qui concerne les objets pointus contaminés ;
- Certaines manipulations produisant des aérosols infectieux ou des risques d'éclaboussures sont effectuées en utilisant des vêtements et un équipement de protection.

#### A. Pratiques de sécurité standard en microbiologie

Les directives de sécurité données ci-dessous s'appliquent à tous les laboratoires de microbiologie quelque soit le niveau de bio-sécurité.

##### *Limiter l'accès au laboratoire*

Mettre des pancartes ou signaux de type « biohasard » sur toutes les portes de laboratoire et sur tout l'équipement (incubateurs, hottes, réfrigérateurs, congélateurs) utilisé pour le travail de laboratoire. Ne pas faire entrer les enfants de moins de 12 ans et les animaux dans les laboratoires. Ces derniers doivent être fermés lorsqu'ils sont inutilisés. Tous les réfrigérateurs et congélateurs placés dans les couloirs doivent être fermés à clé.

##### *Lavage des mains*

Équiper chaque laboratoire d'un évier pour se laver les mains. Se laver souvent les mains est l'une des procédures les plus efficaces pour éviter de contracter des infections dans le laboratoire. Les mains doivent être lavées avec un savon bactéricide avant de sortir du laboratoire ou après avoir touché du matériel infectieux.

### ***Repas***

Il est interdit de manger, de boire ou de fumer dans les zones de travail. La nourriture doit être gardée à l'extérieur de la zone de travail dans des espaces prévus uniquement à cet effet. Ne pas laisser d'objets personnels tels que les sacs à main ou les lunettes sur les paillasses.

### ***Prélèvement par la bouche avec la pipette***

Tout pipetage par la bouche est strictement interdit. Utiliser une poire ou une propipette.

### ***Objets pointus***

Faire extrêmement attention avec des objets pointus contaminés, notamment les aiguilles et les seringues, les lames, les pipettes, les tubes capillaires et les bistouris. Jeter les objets pointus dans des récipients conçus à cet effet. Afin d'éviter les piqûres aux doigts, il ne faut pas chercher à plier ou à casser les aiguilles ou à les recapuchonner car c'est ainsi que l'on risque de se piquer les doigts. Les objets pointus non jetés doivent être mis dans un récipient clairement identifié afin de les décontaminer avant le nettoyage. Ne pas toucher de verre cassé directement avec la main mais l'enlever par des moyens mécaniques comme des brosses, pelle et balayette ou pinces.

### ***Aérosols***

Exécuter attentivement toutes les procédures pour éviter la création d'éclaboussures ou d'aérosols. Éviter les techniques qui ont tendance à produire des aérosols. Faire refroidir les anses et fils d'ensemencement en les tenant en l'air pendant 5 à 10 secondes avant de toucher les colonies ou le matériel clinique. Faire sécher à l'air chaud au-dessus du bec Bunsen les anses contenant du matériel infectieux avant de les passer à la flamme. Faire les opérations de centrifugation ou de vortex dans des récipients fermés. Utiliser de la gaze pour retirer les bouchons des échantillons de sang et placer de la gaze autour du bouchon des flacons d'hémoculture pour minimiser la production d'aérosol au moment de retirer l'aiguille. Ne jamais couper les aiguilles ou les ôter des seringues avant autoclavage. Centrifuger les liquides biologiques uniquement dans des plots comportant des bouchons de sécurité.

Pendant les procédures où il existe un grand risque de créer des aérosols infectieux ou lorsque l'on craint des éclaboussures ou pulvérisations de matériel infectieux ou dangereux, effectuer le travail en laboratoire dans un endroit sûr en se protégeant le visage (lunettes, masques ou autres moyens le protégeant). Il s'agit de toutes les opérations de centrifugation, mélange, agitation, traitement aux ultrasons, ouverture de récipients contenant du matériel infectieux dont la pression interne peut être différente des pressions ambiantes, inoculation à l'animal par le nez et collecte de tissus infectés sur des animaux ou des œufs. Il faut se protéger le visage en cas d'utilisation de concentrations élevées ou de grandes quantités d'agents infectieux.

### ***Décontaminer le dessus des paillasse et des autres surfaces***

Décontaminer régulièrement les surfaces des paillasse avec un désinfectant (désinfectant au phénol, hypochlorite de sodium à 1% (Javel) ou alcool à 70°C) après chaque manipulation d'agents infectieux ou d'échantillons cliniques, après une éclaboussure ou autre contamination avec un matériel infectieux. Les désinfectants doivent être présents sur les lieux de travail.

### ***Évacuation du matériel contaminé***

Les boîtes de Pétri, les tubes, les échantillons cliniques ou tout autre matériel contaminé, doivent être mis dans des récipients-poubelles placés près de chaque paillasse. Utiliser des boîtes spéciales pour les aiguilles et le verre contaminés pour minimiser le plus possible le risque de blessure. Éviter de trop remplir ces récipients. Porter précautionneusement les poubelles jusqu'à la laverie avant de les autoclaver.

### ***Autoclave***

Un autoclave doit être à disposition pour les laboratoires de niveau de biosécurité 2/3, il ne sera utilisé que par un personnel formé en la matière. Des tests de stérilité seront effectués régulièrement avec des bandes de spores ou autres indicateurs biologiques conçus à cet effet. Chaque autoclavage doit être suivi avec une bande sensible à la température, un thermographe ou d'autres moyens (par exemple des indicateurs biologiques).

### ***Conduite générale au laboratoire***

Garder toutes les zones du laboratoire bien propres et bien rangées. Il est inacceptable de faire une recherche biologique dans des locaux sales, poussiéreux, en désordre et encombrés. Les sols doivent être bien propres, sans entassement inutile et lavés avec un produit désinfectant et plus particulièrement après tout renversement de matériel infectieux.

### ***Réfrigérateurs et congélateurs***

Les réfrigérateurs et congélateurs doivent être inspectés régulièrement pour être sûr qu'ils ne contiennent pas de fioles ou de tubes cassés contenant des agents infectieux. Le matériel cassé doit être enlevé par une personne qui porte des gants et une blouse de protection. Nettoyer régulièrement les réfrigérateurs et les congélateurs avec un désinfectant et les décongeler pour éviter toute contamination possible ainsi qu'une remontée de la température.

### ***Prévention des incendies***

Garder tous les becs Bunsen à l'abri des lampes et des produits inflammables, les réserves de produits inflammables doivent être placées dans un lieu sûr. On peut conserver des petites quantités de ces produits inflammables dans des récipients sûrs (par exemple, l'acétate d'éthyle, l'alcool éthylique et le méthanol). Éteindre les becs Bunsen quand on ne les utilise pas. Connaître

l'emplacement des extincteurs et des douches. Les instructions à suivre en cas d'incendie et les voies d'évacuation doivent être affichées.

## **B. Pratiques spéciales**

### ***Transport du matériel bio-dangereux***

Le transport du matériel bio-dangereux d'un établissement à un autre augmente le risque de casse ou de fuites. Observer les directives suivantes si le transport est nécessaire : le récipient primaire des agents infectieux (quelle que soit sa taille) doit être placé dans un second récipient incassable et pouvant être fermé hermétiquement (avec un bouchon que l'on peut visser ou avec un sac en plastique).

### ***Désinfectants***

Les organismes ont des sensibilités différentes aux divers désinfectants. Comme désinfectant de surface, l'alcool à 70° est généralement actif contre les entérobactéries, mais d'autres organismes sont plus résistants. Cependant, l'alcool à 70° n'est pas le désinfectant de choix pour décontaminer lors d'une fuite ou lorsque l'on a renversé un liquide contaminé. Les désinfectants phénoliques, bien que chers, sont généralement actifs contre beaucoup d'organismes. Toujours lire la notice d'utilisation ou les recommandations du fabricant pour les dilutions et le temps d'action, spécialement pour des organismes recommandant des normes de biosécurité de type 3 (comme les mycobactéries par exemple). L'hypochlorite de sodium à 1% (eau de Javel) constitue un bon désinfectant. A cette dilution, on peut l'utiliser sur les surfaces des paillasses, les hottes et tout autre matériel. Une dilution au 1:10 (10%) est corrosive et ronge le métal. Ne pas utiliser régulièrement la dilution de 10% mais l'employer pour nettoyer tout déversement de matériel infectieux en cas de forte contamination. **Préparer quotidiennement les dilutions d'hypochlorite de sodium.**

### ***Décontamination en cas de déversement***

La procédure suivante est recommandée lors des déversements : isoler les lieux afin que personne n'entre. Porter des gants et des habits de protection (blouse ou autre revêtement, masque si le déversement peut contenir un agent respiratoire ou si l'agent est inconnu). Éponger ou recouvrir le déversement avec des serviettes absorbantes. Saturer les serviettes avec un désinfectant adapté, dilué en quantité adéquate. Laisser les serviettes ainsi imbibées sur la surface pendant 15 minutes au minimum. Frotter la zone en utilisant des serviettes imbibées puis laisser sécher la zone. Placer ensuite les serviettes dans un récipient destiné au matériel contaminé. Elles doivent être traitées de la même manière que tout autre déchet infectieux.

### ***Accidents***

Toute blessure ou accident inhabituel doit être rapporté immédiatement au superviseur du laboratoire. Lorsqu'une piqûre ou une coupure a eu lieu avec des aiguilles ou autre matériel potentiellement contaminé, laver la blessure avec un savon désinfectant et de l'eau. Dans le cas d'un accident de centrifugation, quand des portoirs de sécurité n'ont pas été utilisés, prévenir les autres personnes du laboratoire afin d'éviter la zone puis en informer le superviseur.

## **C. Habits et équipement de protection**

### ***Blouses de laboratoire***

Porter des blouses ou des uniformes de protection pendant que l'on travaille dans le laboratoire. Enlever ces vêtements de protection au moment de quitter le travail (ou la zone du laboratoire) et les laisser au laboratoire. Tous les vêtements de protection sont soit détruits au laboratoire soit nettoyés par l'institution. Ils ne doivent jamais être emportés à la maison par le personnel.

### ***Gants***

Quelque soit le type de matériel infectieux, porter des gants lors de l'exécution de procédures jugées dangereuses (par exemple, l'agglutination sur lame) quand il y a un risque d'éclaboussure ou de contamination de la peau ou encore quand le technicien de laboratoire a des coupures ou autres lésions sur la main. Les gants doivent toujours être portés lors du travail avec des échantillons cliniques, des liquides biologiques et des tissus humains ou animaux. Il faut partir du principe qu'ils peuvent être contaminés par le virus de l'hépatite B, du VIH, d'autres pathogènes transmis par le sang ou par *Mycobacterium tuberculosis*. Enlever les gants quand ils sont contaminés ou quand le travail avec le matériel infectieux est terminé. Ne pas porter les gants à l'extérieur du laboratoire. Ne pas utiliser le téléphone et ne pas ouvrir les portes avec des gants qui ont été utilisés pendant les manipulations de laboratoire. Jeter tous les gants utilisés avec le reste du matériel à usage unique destiné à être autoclavé. Les mains doivent être lavées juste après avoir enlevé les gants.

### ***Protections***

Toujours considérer les échantillons cliniques, les liquides biologiques et des tissus humains ou animaux comme potentiellement positifs pour le virus de l'hépatite B, le VIH, d'autres pathogènes transmis par le sang ou pour *Mycobacterium tuberculosis*. Ces échantillons devraient être manipulés dans des hottes de sécurité en se dotant de protections appropriées comme les lunettes, les gants, un masque ou tout autre moyen de protéger le visage des éclaboussures ou des aérosols.

## **Références**

Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health.  
Biosafety in microbiology and biomedical laboratories. Washington, DC : US  
Government Printing Office, stock numéro 017-040-00523-7.

Organisation Mondiale de la Santé. Laboratory biosafety manual, 2<sup>nd</sup> edition.  
Genève : OMS ; 1993 : ISBN 92 4 154450 3.