

Être exposé à des agents biologiques sur le lieu de travail peut être source de risques lorsque ces agents sont pathogènes. Certains salariés connaissent les agents biologiques, les utilisant de façon délibérée (laboratoire de recherche biologique, industrie pharmaceutique...); d'autres y sont potentiellement exposés sans vraiment les connaître (assainissement, déchetterie, milieu de soins...).

Dans les deux cas, l'évaluation et la prévention des risques biologiques passent par une meilleure connaissance de ces agents biologiques pathogènes et des dangers qu'ils représentent. Ce document décrit donc les différents agents biologiques, leur mode de vie, leur intérêt industriel et leur pouvoir pathogène possible.

Les agents biologiques

Les agents biologiques sont définis dans l'article R. 231-61 du code du travail comme « les micro-organismes, y compris les micro-organismes génétiquement modifiés, les cultures cellulaires et les endoparasites humains susceptibles de provoquer une infection, une allergie ou une intoxication ». Cet article définit également le micro-organisme comme « une entité microbiologique, cellulaire ou non, capable de se reproduire ou de transférer du matériel génétique ».

Les agents biologiques comprennent donc des êtres vivants, qui peuvent être des

micro-organismes ou des organismes de taille plus importante, mais également des structures protéiques, de type prion, pouvant entraîner des maladies chez l'homme.

QUE SONT LES AGENTS BIOLOGIQUES ?

Une liste des agents biologiques pathogènes, fixée par arrêté, comprend les bactéries, les champignons, les endoparasites, les virus et les agents transmissibles non conventionnels (ATNC) décrits ci-dessous.

Les bactéries

Les bactéries sont des êtres unicellulaires dépourvus de noyau, de formes et de tailles variables (en moyenne 1 à 10 µm), enveloppés, pour la plupart, d'une paroi. Certaines bactéries ont, en plus, une couche externe composée principalement de polysaccharides, appelée capsule ou couche mucoïde.

L'observation au microscope optique montre des bactéries en forme de bâtonnet, appelées **bacilles**, et d'autres bactéries de forme ronde, appelées **coques**. Certains noms de genre évoquent d'ailleurs la forme de la

bactérie : staphylocoque, streptocoque, lactobacille.

Un premier test de classification des bactéries consiste à effectuer une coloration, inventée par M. Gram en 1884, différenciant deux types de composition chimique des parois. À l'issue de cette coloration, certains

germes apparaissent violets (ils sont dits **Gram-positif**), d'autres roses (**Gram-négatif**). Suite au résultat de la coloration de Gram, les échantillons sont ensemencés sur des milieux de culture spécifiques favorisant le développement des germes. Après généralement 24 h dans une étuve, les colonies de

Les êtres vivants

Les êtres vivants sont formés de cellules représentant l'unité de vie de tout organisme.

La cellule est délimitée par une membrane, consolidée ou non par une paroi. La membrane enveloppe un cytoplasme liquide contenant généralement un noyau. Le noyau renferme l'information génétique, ou **génome**, représentant l'ensemble des gènes. Les gènes se trouvent sur une ou plusieurs molécules chimiques appelées ADN (acide désoxyribonucléique). Le génome dirige la synthèse des protéines, notamment des enzymes qui interviennent dans les réactions chimiques (le **métabolisme**) se déroulant dans la cellule et assurant son fonctionnement.

Les êtres pluricellulaires sont constitués de plusieurs cellules qui se spécialisent alors dans des fonctions précises : les globules rouges du sang transportent l'oxygène, des cellules nerveuses transmettent des informations, etc.

Ces cellules peuvent être isolées et cultivées dans des milieux liquides reconstituant leur environnement. Les **cultures cellulaires** peuvent être utilisées dans certaines techniques de greffe, pour la production de substances, ou encore pour servir d'hôte à des virus que l'on souhaite étudier.

Un être unicellulaire ne compte qu'une cellule qui remplit toutes les fonctions : nutrition, locomotion, reproduction... Les micro-organismes sont le plus souvent unicellulaires, et comptent une phénoménale variété : bactéries, champignons et protozoaires.

Les virus classés parmi les micro-organismes, ne sont pas des cellules mais des êtres acellulaires parasites des cellules.

Les micro-organismes

Les micro-organismes se trouvent naturellement dans l'environnement (l'eau, le sol, les plantes), où ils sont à la base de toutes les chaînes alimentaires, et au sein des êtres vivants (dans le tractus intestinal, sur la peau, l'oreille externe, le nez...). Leur grande distribution s'explique par la diversité de leur métabolisme : ils peuvent aussi bien dégrader une matière organique ou minérale pour la transformer en énergie, que synthétiser des molécules complexes à partir de molécules plus simples.

Il est possible de trouver différents micro-organismes dans des environnements extrêmes : températures de $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ à $+110\text{ }^{\circ}\text{C}$; pH de 0,5 à 11,5 ; milieux saturés en sel comme la Mer Morte ; pression élevée des grandes profondeurs ($-10\text{ }500\text{ m}$) ; radiations 1 000 fois supérieures à la dose mortelle pour l'homme. Lorsqu'ils poussent en présence d'oxygène, les micro-organismes sont dits **aérobies**, et lorsqu'ils poussent en absence d'oxygène, ils sont dits **anaérobies**.

Relation des micro-organismes avec les autres êtres vivants

Un micro-organisme peut être :

pathogène : s'il peut entraîner des maladies ;

opportuniste : un micro-organisme habituellement non pathogène peut le devenir suite à un affaiblissement des défenses immunitaire de l'organisme hôte. Le système immunitaire normal permet, à l'aide de cellules sanguines et de molécules spécifiques (les anticorps) de détruire tout corps étranger qui envahit l'organisme.

Exemple : chez les personnes aux défenses immunitaires affaiblies, la bactérie opportuniste Staphylococcus epidermidis qui vit normalement sur la peau, est potentiellement pathogène.

commensal : se dit d'un organisme vivant sur ou dans un organisme d'une autre espèce, en se nourrissant des aliments de ce dernier sans lui nuire ni lui être utile.

Exemple : la plupart des Escherichia coli, sont des espèces commensales du tube digestif de l'homme et des animaux.

parasite : caractérise un organisme qui vit aux dépens d'un autre organisme (l'hôte). Les **endoparasites** se développent à l'intérieur de l'hôte.

Exemple : Plasmodium falciparum, injecté à l'hôte lors d'une piqûre de moustique, parasite les globules rouges, entraînant les symptômes du paludisme.

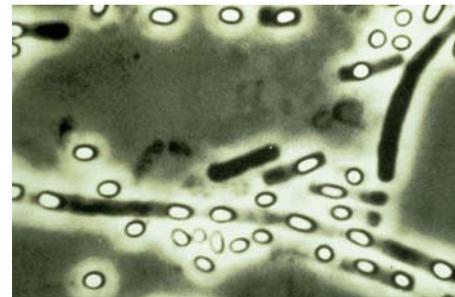
Classification et nomenclature des micro-organismes

Les micro-organismes sont classés en classe, ordre, famille, genre et espèce. Ils sont couramment désignés par leurs noms de genre et d'espèce (ex. : *Legionella pneumophila*, où *Legionella* est le nom de genre, toujours écrit avec une majuscule, et *pneumophila* est le nom d'espèce). Lorsqu'un micro-organisme est désigné par son nom latin, celui-ci s'écrit en italique avec une majuscule, ce qui n'est pas le cas pour le nom français (ex. : légionnelle, pasteurelle).

Chez les virus, le nom de genre commence également par une majuscule et finit par le suffixe -virus (ex. : *Varicellavirus*, *Coronavirus*). Le nom d'espèce commence par une minuscule et est précédé (ou suivi, pour la dénomination anglaise) du mot virus (ex. : virus de la rage, virus de l'hépatite A humaine).

Les virus sont couramment désignés par leurs initiales. Celles-ci peuvent provenir :

- de leur dénomination anglaise, par exemple HBV (hepatitis B virus), HIV (human immunodeficiency virus),
- de leur dénomination française, comme VHB (virus de l'hépatite B), VIH (virus de l'immunodéficience humaine), CMV (cytomégalovirus).



Bacillus anthracis © Institut Pasteur

bactéries qui ont poussé sur ces milieux subissent une série de tests biochimiques, permettant de déterminer le métabolisme des bactéries et ainsi de les identifier en leur attribuant leurs noms de genre et d'espèce.

Certaines bactéries Gram-positif, particulièrement celles vivant dans le sol, peuvent former des **spores** de résistance, lorsque les conditions environnementales deviennent défavorables. Ces spores peuvent subsister très longtemps, comme le montre l'exemple des « champs maudits » qui contenaient des spores de *Bacillus anthracis* transmettant pendant de nombreuses années la maladie du charbon aux troupeaux qui y paissaient.

Les bactéries Gram-négatif ont une paroi composée entre autres de lipopolysaccharides (LPS) qui sont libérés lors de la division ou de la mort cellulaire. Ces LPS constituent des **endotoxines** responsables de nombreux symptômes de type fièvre, nausée, diarrhée, inflammation.

D'autres bactéries Gram-négatif (comme *Salmonella*, *Escherichia*...) ou Gram-positif (comme *Clostridium botulinum*, *Bacillus anthracis*, *B. cereus*...) sécrètent des protéines toxiques appelées **exotoxines**.

Les champignons ou mycètes

Les mycètes sont des micro-organismes (1 à 100 μm) avec noyau, pouvant être composés d'une cellule (les **levures**) ou de plusieurs cellules (les **moisissures**). Les levures sont généralement de forme ronde, alors que les moisissures s'étirent en filaments ramifiés. Certains mycètes peuvent passer de la forme levure dans un environnement à la forme moisissure dans un autre environnement.



Aspergillus niger © Institut Pasteur

Les mycètes se reproduisent de façon sexuée ou asexuée par différents procédés, notamment en émettant des **spores fongiques** caractéristiques de l'espèce. Ces spores se dispersent facilement et adhèrent au corps des insectes et des animaux, ce qui participe à la grande dissémination des mycètes dans l'environnement.

Les mycètes ont un rôle capital dans la décomposition des matières organiques, libérant ainsi des substances essentielles aux autres êtres vivants. Certains mycètes peuvent entraîner des maladies appelées **mycoses** chez les plantes, les animaux et l'homme. Ces maladies peuvent être plus ou moins profondes (*Trichosporon*, *Trichophyton*, *Microsporium*...).

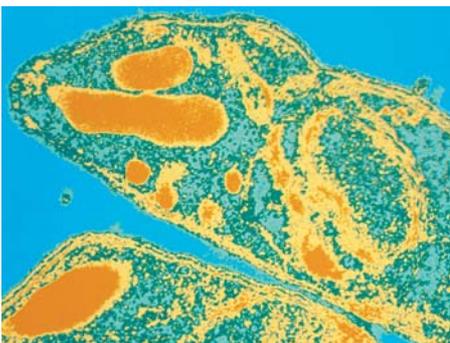
D'autres mycètes peuvent être opportunistes (*Aspergillus*, *Candida*), en entraînant des mycoses chez les personnes aux défenses immunitaires affaiblies.

Par ailleurs, certains mycètes sécrètent des toxines appelées **mycotoxines**, comme l'aflatoxine produite par *Aspergillus flavus*.

L'identification des mycètes passe par l'observation des aspects macroscopique et microscopique des colonies cultivées sur milieu gélosé. Des tests biochimiques supplémentaires sont effectués pour identifier les levures.

Les endoparasites

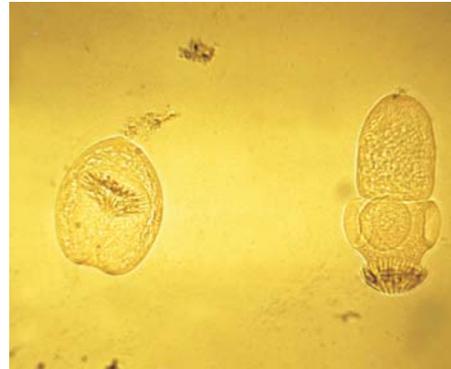
Il s'agit non pas d'une famille d'organismes mais bien d'un mode de vie d'organismes pouvant appartenir à des règnes différents (animaux, végétaux, champignons...). Les endoparasites humains peuvent être des protozoaires mais également des vers (helminthes).



Plasmodium falciparum © Institut Pasteur

Les **protozoaires** sont des micro-organismes unicellulaires avec noyau, présentant une très grande diversité (de 10 µm à 2 cm). Sensibles à la dessiccation, ils se retrouvent dans les eaux douces ou marines (zooplancton) ou encore dans les zones humides. Les protozoaires peuvent être libres, commensaux ou parasites. Parmi ces derniers, citons *Toxoplasma gondii* (agent de la toxoplasmose), ou encore *Plasmo-*

dium falciparum, agent du paludisme. Certains parasites ont la capacité de **s'enkyster** (transformation en kyste avec une paroi épaisse et un métabolisme ralenti), lorsque les conditions environnementales deviennent défavorables, ou au moment de la division cellulaire, ou encore lors de leur cycle pour donner la forme infestante du parasite.



Echinococcus granulosus © Institut Pasteur

Les **helminthes** sont des invertébrés au corps allongé, aplati ou cylindrique. Parmi ces vers, citons les ténias, douves, ascaris et oxyures.

Au cours de leur vie, les parasites peuvent avoir des formes et des localisations très variables. Par exemple, l'œuf d'un parasite peut se développer dans le sol jusqu'à un stade larvaire déterminé. La larve peut être absorbée par un hôte intermédiaire dans lequel elle se transforme en d'autres stades larvaires. Elle sort ensuite de l'hôte intermédiaire et contamine l'hôte définitif. Dans ce dernier, le parasite atteint le stade adulte, se reproduit et émet des œufs qui passent ensuite dans l'environnement extérieur.

L'hôte définitif peut se contaminer de façon directe mais également par l'intermédiaire d'un hôte vecteur. Ce dernier peut être par exemple une tique, une mouche ou un moustique, qui porte une forme infestante du parasite et qui la transmet à l'hôte définitif lors d'une piqûre.

L'identification du protozoaire ou du ver se fait par la recherche des différents stades de développement du parasite, ou par la recherche, chez l'hôte, d'anticorps dirigés contre le parasite.

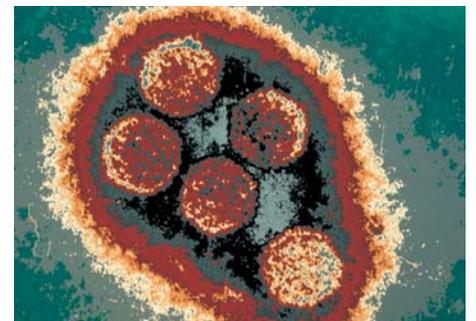
Les virus

Les virus sont des structures (et non des cellules au sens strict) de 20 à 200 nm (*milliardième de mètre*), présentant des formes variées visibles au microscope électronique. Les virus se composent uniquement d'un génome (ADN ou ARN - acide ribonucléique) entouré d'une coque protéique, qui protège le virus lors de son passage dans le milieu extracellulaire. Cette coque peut être parfois doublée d'une enveloppe facilement détruite, ce qui fragilise grandement le virus.

Les virus sont des **parasites de cellules** spécifiques d'animaux, d'insectes, de plantes, ou de micro-organismes. Le virus réquisitionne la machinerie de la cellule pour répliquer son génome viral et synthétiser ses protéines. Sa multiplication et sa sortie entraînent la destruction de la cellule, ce qui peut provoquer des symptômes, comme par exemple la paralysie due aux Poliovirus détruisant certaines cellules nerveuses.

Il peut également s'établir un équilibre entre la survie de la cellule et la présence du virus, qui peut être réactivé suite à une baisse des défenses immunitaires (virus de l'herpès humain par exemple).

Le génome du virus peut aussi s'intégrer dans le génome de la cellule hôte, qui se trouve alors perturbée, ce qui peut aboutir parfois à l'apparition de cancers.



Virus Herpes simplex © Institut Pasteur

Les virus, étant des parasites stricts, se cultivent uniquement sur des cultures de cellules qui leur sont spécifiques. En laboratoire d'analyses, les virus sont détectés indirectement au moyen de techniques rapides d'immunologie ou de biologie moléculaire.

Les prions ou Agents Transmissibles Non Conventionnels (ATNC)

Ils sont classés parmi les agents biologiques, bien que n'étant pas des micro-organismes. Les ATNC sont responsables, chez l'homme et les animaux, de maladies dégénératives du système nerveux central. Différents prions sont notamment responsables de la "maladie de la vache folle" chez les bovins et de la maladie de Creutzfeldt-Jakob chez l'homme. Selon l'hypothèse la plus communément admise, il s'agit d'une protéine de la membrane des cellules du système nerveux central. Sous sa forme normale, cette protéine joue un rôle dans la transmission de l'influx nerveux. La forme anormale (le prion) transforme, par contact, toute protéine normale en prion. L'accumulation des prions dans la cellule nerveuse finit par la détruire. Le prion, n'étant pas un être vivant, ne se cultive pas, mais peut être extrait de cultures cellulaires ou d'organismes entretenus dans ce but.

INTÉRÊT DES AGENTS BIOLOGIQUES

De nombreux micro-organismes présentent un intérêt en produisant ou dégradant des molécules et en se multipliant rapidement.

■ Certains micro-organismes sont utilisés depuis des milliers d'années pour la **transformation des produits alimentaires** (boissons alcoolisées, fromages, pain...). Par exemple, le yaourt qui peut contenir jusqu'à un milliard de bactéries par gramme, est produit grâce à *Streptococcus thermophilus* qui acidifie et à *Lactobacillus bulgaricus* qui forme le composé aromatique. Les polysaccharides bactériens (issus de la capsule ou de la couche mucoïde) sont utilisés en industrie alimentaire et pharmaceutique comme agents stabilisants, dispersants ou gélifiants.

■ La capacité des micro-organismes à **dégrader de nombreuses molécules organiques ou minérales** est largement exploitée pour dépolluer les sols, les eaux ou l'air. Il s'agit soit de stimuler la microflore indigène capable naturellement de dégrader le polluant, soit d'apporter des micro-organismes connus pour dégrader ce polluant.

Des micro-organismes peuvent également être employés en association avec les détergents des fontaines de dégraissage des métaux. La graisse tombant dans la cuve de la fontaine est dégradée progressivement par les micro-organismes qui s'en nourrissent.

■ Certains micro-organismes **produisent des métabolites** (molécules formées au cours du métabolisme) pouvant avoir des applications dans les domaines de la santé ou de l'industrie :

- des bactéries ont la capacité de synthétiser des tensioactifs (*Bacillus licheniformis*, *B. subtilis*, *B. cereus*, *B. thuringiensis*, *Pseudomonas fluorescens*...);
- des moisissures comme *Ashbya*, *Eremothecium*, *Blakeslea* synthétisent des vitamines;
- certains *Streptomyces*, *Bacillus* et *Penicillium* sont particulièrement cultivés pour leur capacité à produire de nombreux antibiotiques actifs sur les bactéries et les mycètes.

■ les **micro-organismes génétiquement modifiés** contiennent un ou plusieurs gènes étrangers apportant un nouveau caractère

qui sera transmis aux générations suivantes. Ils permettent :

- de faire synthétiser un produit inhabituel au micro-organisme ou de modifier le produit habituellement synthétisé. Après modification génétique, *Escherichia coli* et *Saccharomyces cerevisiae* peuvent produire de l'insuline, des hormones de croissance humaine, des interférons, etc.

- d'agir sur le niveau de synthèse d'un produit (il est possible d'obtenir des cellules dont 30 % du poids est constitué du produit désiré).

■ Certains virus, bactéries et mycètes présentent également des **propriétés insecticides**. Par exemple, la bactérie *Bacillus thuringiensis* produit au cours de sa sporulation des cristaux contenant des protéines toxiques pour les larves d'insectes.

POUVOIR PATHOGÈNE DES AGENTS BIOLOGIQUES

■ Certains agents biologiques entraînent des pathologies chez l'homme. Ils peuvent se trouver naturellement dans l'environnement ou chez certains êtres vivants, qui sont alors dénommés **réservoir d'agents biologiques**.

■ La transmission d'un agent biologique peut se faire de façon directe en présence d'un réservoir, ou indirecte lors d'un contact avec des objets souillés par des agents pathogènes. En milieu professionnel, un agent biologique peut pénétrer un organisme par plusieurs **voies de transmission**.

La voie respiratoire : l'agent biologique inhalé peut se trouver sur des particules solides ou liquides. Ce type de particules contaminées inhalables est encore appelé **bioaérosol**.

La voie cutané-muqueuse : l'agent biologique peut pénétrer à travers une peau excoriée ou parfois une peau saine. L'agent biologique peut également passer les muqueuses nasale, buccale et oculaire.

La voie digestive : l'agent biologique peut être involontairement ingéré en portant des mains contaminées à la bouche, en se rongant les ongles, en ne respectant pas les mesures d'hygiène consistant à se laver les mains avant de manger, boire...

■ Une fois qu'ils ont pénétré le corps, les micro-organismes peuvent être la cause d'infections, de toxi-infection, d'allergie ou de cancer.

L'infection est due à l'entrée, puis à la multiplication d'un micro-organisme dans le corps.

La toxi-infection est entraînée par la seule présence d'une toxine produite par un micro-organisme. Par exemple, le bacille *Clostridium tetani* produit une neurotoxine responsable des symptômes du tétanos.

L'allergie ou l'hypersensibilité est une réaction de défense immunitaire trop importante.

Le cancer se traduit par une multiplication anarchique des cellules. Il peut être entraîné par certains micro-organismes (virus de la leucémie humaine HTLV) ou résulter de l'évolution de maladies chroniques provoquées par des micro-organismes (hépatite C chronique pouvant évoluer vers un cancer du foie).

Le Code du travail classe les agents biologiques en quatre groupes selon le risque croissant d'infection qu'ils représentent pour un travailleur sain (art. R. 231-61-1). Ce classement ne tient pas compte des toxi-infections, allergies et cancers.

Un arrêté du 18 juillet 1994, modifié par les arrêtés du 17 avril 1997 et du 30 juin 1998, dresse la liste des bactéries, champignons, endoparasites, virus, agents transmissibles non conventionnels (ATNC) appartenant aux groupes de risque infectieux 2, 3 et 4.

POUR EN SAVOIR PLUS

TO 1 - Classement des agents biologiques.
Paris, INRS, 1999, 8 p.
Ce document présente la liste des agents biologiques des groupes 2, 3, 4 (d'après le décret n° 94-352 et l'arrêté du 18/07/1994 modifié)

Auteur : Christine David

- Secrétariat de rédaction : Christine Larcher
- Photographies : Institut Pasteur