

Propositions d'évolution "nanobiotechnologies" sur les Bonnes Pratiques de Laboratoire

*KAHL Mélodie, *MOUNGUENGUI Aryanne, *TURK Juliana, **FARGES Gilbert, **El KIRAT Karim

*Master Management de la Qualité - ** UMR CNRS 6600 BioMécanique et BioIngénierie
Université de Technologie de Compiègne - BP 60319- 60203 Compiègne Cedex France
Tél: 03 44 23 44 58 Fax: 03 44 23 43 31 - emails : gilbert.farges@utc.fr - kelkirat@utc.fr
Site web: <http://www.utc.fr/master-qualite> - <http://www.utc.fr/umr6600>

Contexte et enjeux :

Les nanotechnologies sont définies comme étant l'ensemble des études et des procédés de fabrication où sont manipulées des structures ayant une taille comprise entre 1et 100 nanomètres [1]. Leur utilisation est actuellement en pleine expansion dans le domaine de la recherche et de l'industrie [2]. De ce fait, le développement extrêmement rapide de ces technologies dans les produits « grand public » (cosmétiques...) suscite des interrogations à cause de la forte exposition potentielle pour une population importante.

Les Bonnes Pratiques de Laboratoire élaborées par l'Organisation de Coopération du Développement Economique (OCDE), visent à garantir la fiabilité des résultats en laboratoire et assurer la sécurité des personnes. C'est un ensemble de recommandations recouvrant tout le processus de l'organisation ainsi que les conditions dans lesquelles les études de laboratoire sont planifiées, mises en œuvre, vérifiées, enregistrées et rapportées [3]. Les BPL s'appliquent aux laboratoires des secteurs industriels et de recherche. Cependant à notre connaissance, il n'existe à ce jour aucun référentiel concernant l'expérimentation ou la manipulation des nanobiotechnologies en laboratoire. C'est donc dans le but d'harmoniser les pratiques de laboratoire et d'en garantir la sécurité que s'inscrit l'élaboration d'un avenant au guide de Bonnes Pratiques de Laboratoire particulier au nanobiotechnologies.

Les enjeux d'un tel projet dans le domaine de la qualité-recherche sont : scientifiques, éthiques, économiques, sociétaux et environnementaux.

Les enjeux scientifiques sont associés au besoin des chercheurs d'être plus rapidement créatifs dans un monde où Internet et les moyens d'accès et de diffusion de la connaissance sont décuplés. En effet, l'énergie créative, les savoirs et les savoir-faire scientifiques d'un laboratoire doivent être méticuleusement capitalisés afin d'augmenter sa capacité à répondre efficacement à de nouvelles problématiques, à s'associer à des projets multidisciplinaires et à être moteur dans les questionnements novateurs [4].

L'enjeu éthique n'est pas encore suffisamment perçu, la question des limites aux possibilités ouvertes par les nanobiotechnologies n'étant à l'heure actuelle pas ou mal posée. Les retours d'expérience montrent que lorsque la divergence est trop forte entre technique et éthique, les tensions sociales qui en résultent créent des dommages et souffrances irréversibles [5].

Les enjeux économiques sont associés à la légitime nécessité pour les chercheurs de garantir la meilleure utilisation des ressources qui leur sont mises à disposition.

Les enjeux sociétaux et environnementaux proviennent de l'image que la science laisse au sein de la société : un profond respect pour sa capacité à résoudre des problèmes cruciaux, mais aussi et de plus en plus souvent un doute et une mise en cause sur les risques associés à l'exploitation des nouvelles connaissances produites [4]. Les risques liés aux nanobiotechnologies étant peu connus, il est important de préserver l'environnement en évitant toute pollution du fait de la libération de nanoparticules éventuellement dangereuses pour l'homme et l'environnement.

Présentation des Bonnes Pratiques de Laboratoire de l'OCDE

Les Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL) sont un ensemble de pratiques préétablies qui visent l'organisation générale d'une étude en laboratoire ainsi que les conditions dans lesquelles les analyses sont préparées, effectuées, suivies, enregistrées et rapportées [3].

Les Bonnes Pratiques préconisées par l'OCDE portent sur :

- Les compétences : savoirs et savoir-faire.
- L'organisation : en focalisant sur les aspects sécurité des études de laboratoire (non-cliniques, santé et environnement).
- Les conditions dans lesquelles ces études sont planifiées, réalisées, contrôlées, enregistrées, archivées, diffusées.
- Le management par des personnes investies de l'autorité et de la responsabilité officielle de l'organisation et du fonctionnement conforme à l'OCDE (arbitrage, choix).
- Les installations d'essais : les expérimentateurs ou les opérateurs, les locaux et les équipements.

Un outil d'autodiagnostic BPL est disponible gratuitement sur internet et permet de situer très rapidement un laboratoire sur l'ensemble des exigences de bonnes pratiques de laboratoire [6]. Une cartographie globale, sous forme de graphe radar, précise en un coup d'œil le niveau de respect moyen sur les 10 chapitres de bonnes pratiques.

Propositions de Bonnes Pratiques de Laboratoire sur les nanobiotechnologies

A partir d'études bibliographiques [3, 4, 5, 6], des retours d'expérience et l'analyse des risques [7], cinq axes importants ont été identifiés pour garantir la sécurité des manipulations des nanobiotechnologies (figure 1).

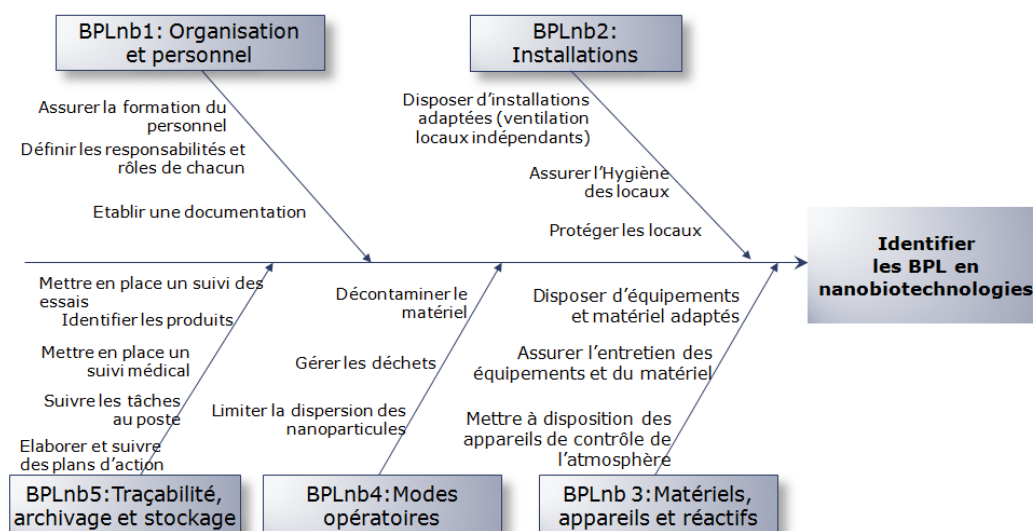


Figure 1: identification des axes de BPLnb spécifiques aux nanobiotechnologies [7]

Sur chaque axe, les facteurs et moyens d'action importants pour manipuler en toute sécurité des nanobiotechnologies sont :

BPLnb1 - L'organisation et le personnel

Dans cette partie, 3 points ont été identifiés :

- *Responsabilités et rôles* : Il s'agit de nommer un responsable sécurité et une seconde personne en cas d'absence du responsable désigné, ainsi qu'identifier le personnel concerné ou impliqué dans les manipulations avec les nanobiotechnologies.
- *La formation* : afin d'habiliter le personnel et le sensibiliser aux notions de risques et de bonnes pratiques de laboratoire à suivre.
- *La documentation* : qui concerne les différentes procédures et enregistrements à mettre en place pour pouvoir assurer le suivi et la sécurité du personnel.

BPLnb2 - Les installations

- *Disposer des installations adaptées* : pour manipuler les nanobiotechnologies, il est généralement recommandé d'avoir des locaux indépendants séparés des autres locaux de l'établissement. Ces derniers doivent également disposer d'une ventilation et d'une aération afin de permettre l'absence de courant d'air vers l'extérieur et le renouvellement de l'air interne (confinement), ce qui implique aussi un filtrage de l'air avant rejet vers l'extérieur.
- *Assurer l'hygiène des locaux* : les conditions d'hygiène sont importantes pour garantir la fiabilité des résultats et la sécurité des opérateurs, il est souhaitable de les nettoyer avec un appareil approprié (aspirateur muni de filtre type HEPA (high efficiency particulate air filter)) ou par voie humide (ne pas souffler).
- *Protéger les locaux* : il est recommandé à l'entrée des locaux dédiés aux nanoparticules de mettre une signalisation « Personnel autorisé seulement » cela doit permettre d'informer le reste du personnel de l'établissement sur la nature des risques encourus.

BPLnb 3 - Matériels et équipements

- *Disposer d'équipements et matériel adaptés* : l'utilisation des dispositifs ayant une action de barrière de protection diminuant le risque à l'exposition tels que des hottes ou boîtes à gants est fortement recommandée.

La mise à disposition d'Équipements de Protection Individuelle (EPI) nom du fabricant adaptés pour le personnel habilité est également nécessaire. Des vêtements non tissés destinés à la manipulation devront être portés, ils seront enlevés en quittant la zone de travail et rangés dans un endroit séparé des vêtements de ville. Une attention particulière doit être apportée au personnel d'entretien qui a souvent accès à des endroits où le niveau d'exposition pourrait être important. L'équipement de protection respiratoire et faciale requis pour les tâches identifiées à risques doit être sélectionné et porté.

L'établissement devra également identifier et réserver aux manipulations sur les nanobiotechnologies le matériel et l'instrumentation de manipulation (spatules et pinces). Afin d'éviter toute contamination, l'établissement devra disposer de locaux de poubelles de récupération de matériaux contaminés ainsi que de sacs plastiques hermétiques pour contenir les déchets.

- *Assurer l'entretien des équipements et du matériel* : les appareils et équipements (hotte, boîte à gants) doivent être nettoyés, vérifiés, éventuellement certifiés. Une procédure d'entretien pour chaque appareil doit être établie, communiquée, suivie et tracée. L'entretien de ces appareils est réalisé par un technicien ayant suivi une formation spécifique aux nanobiotechnologies.
- *Mettre à disposition le matériel de contrôle de l'atmosphère* : l'usage d'appareils de contrôle permettra d'évaluer le niveau d'empoussièrement dans les locaux et donc le niveau d'exposition du personnel concerné. Afin d'apprécier au mieux le risque lié à l'inhalation, il est recommandé de prélever les aérosols nanométriques avec des appareils spécifiques dans la zone respiratoire des opérateurs. Pour cela une procédure de contrôle qualité hebdomadaire de l'atmosphère pour les sites où l'activité avec les nanobiotechnologies est importante doit être établie.

BPLnb4 - Modes opératoires

Les bonnes pratiques de laboratoire en nanobiotechnologies pour les modes opératoires se déroulent en 3 points :

- *La décontamination du matériel* : consiste à nettoyer le matériel avec des produits adaptés.
- *La gestion des déchets* : il s'agit de leur marquage et de leur évacuation car le devenir de fin de vie des produits contenant des nanomatériaux est inconnu. La gestion des déchets doit faire l'objet de procédures bien établies, prenant en compte les obligations réglementaires, les quantités et la dangerosité intrinsèque des nanomatériaux. Une attitude prudente consiste à considérer, à conditionner et à évacuer ces matériaux comme des substances dangereuses, dans des conteneurs étanches, des sacs en plastique avec double enveloppe et étiquetage mentionnant la présence de nanomatériaux et les risques potentiels associés. Afin de protéger la santé humaine et

l'environnement, tous les effluents devraient être incinérés ou traités avant d'être retournés dans l'environnement.

- *La limitation de la dispersion des nanoparticules* : Il est recommandé de remplacer les préparations de nanoparticules pulvérulentes par des préparations qui contiennent des nanoparticules sous forme liée et rendent ainsi plus difficile une libération (dispersions, pâtes, granulés, composés, etc....) afin de limiter l'exposition des opérateurs [8].

Il est également souhaitable de remplacer les applications par projection par des procédures ne générant que peu d'aérosols (badigeonnage, immersion) [8].

BPLnb5 - Traçabilité, archivage et stockage

Dans cette partie, 5 points ont été proposés :

- *L'identification des produits* : renseigner une fiche « procédés nanomatériaux » pour l'inventaire des produits et la traçabilité des opérations.
- *La mise en place d'un suivi médical* : moyen de protection réalisé de manière périodique, adapté aux salariés, composé d'exams médicaux « conventionnels », l'identification du risque sur la fiche d'exposition de chaque opérateur, actions de sensibilisation des médecins de travail, et veille sanitaire des travailleurs.
- *Le suivi des tâches au poste* : Analyse du risque au poste, remplir une fiche d'exposition individuelle (nature du travail effectué, caractéristiques des produits, périodes d'exposition, dates). Les tâches varient selon les endroits (une tâche par procédé à mettre en œuvre d'après les mesures de prévention).
- *Elaboration et suivi des plans d'action* : le but étant de s'assurer que les procédures et consignes mises en place sont respectées par le personnel. Tout écart face aux règles mises en place fera l'objet de plans d'actions correctives ou préventives afin d'améliorer le processus. Ces plans d'actions font l'objet d'enregistrements conservés et disponibles auprès du personnel et constituent une preuve du suivi des activités au sein du laboratoire.
- *Suivi des essais* : il est recommandé de consigner toutes les réalisations des essais et leurs résultats dans un cahier de laboratoire pour une éventuelle utilisation des données. Il est souhaitable de conserver ce dernier dans le laboratoire pendant toute la durée d'un projet en cours afin qu'il soit consulté par tous les membres de l'équipe. Une fois le projet terminé, les cahiers de laboratoire sont conservés au sein de l'établissement.

Autodiagnostic

Afin d'identifier les situations existantes et de déterminer les améliorations prioritaires, un outil d'autodiagnostic a été élaboré à partir d'un fichier Excel[®] automatisé comportant 5 onglets [7].

1. **Onglet "Contexte"** : Méthode d'utilisation de l'autodiagnostic.

2. **Onglet "Grille d'évaluation"** : L'opérateur répond à des affirmations associées aux critères de réalisation pour chaque bonne pratique (figure 2). Chaque critère est évalué sur une échelle de 0% à 100% à travers 6 niveaux de véracité : Faux unanime (0%), Faux (20%), Plutôt Faux (40%), Plutôt Vrai (60%), Vrai (80%) et Vrai prouvé (100%).

BPLnb1: Organisation et personnel				
Crit1	Responsabilités et rôles	Evaluations	Modes de preuve	Observations
1.1	Il existe un responsable chargé de la sécurité pour les nanobiotechnologies	Vrai		
1.2	Il existe un suppléant à la sécurité pour les nanobiotechnologies	Plutôt Vrai		
1.3	il existe une preuve écrite de ces désignations	Faux Unanime		

Figure 2 : Grille d'évaluation de l'autodiagnostic sur les bonnes pratiques en nanobiotechnologies (BPLnb) [7]

3. **Onglet "Synthèse des résultats"** : il porte sur chaque axe de bonnes pratiques et indique un score globale pour l'ensemble des bonnes pratiques (figure 3).

Atteindre les objectifs des processus :	Taux de véracité
Garantir la maîtrise des Bonnes Pratiques en nanobiotechnologies	43%
BPLnb1: Organisation et personnel	53%
BPLnb2: Installations	16%
BPLnb3: Matériels et équipements	36%
BPLnb4: Traçabilité, archivage et stockage	25%
BPLnb5: Modes opératoires	71%

Figure 3: Exemple de synthèse de résultats obtenus sur les bonnes pratiques en nanobiotechnologies

4. **Onglet "Cartographie"** : il résume les résultats sous forme d'un graphe radar où chaque axe représente le score de chaque bonne pratique. En un coup d'œil tout utilisateur peut identifier les points forts mais aussi les priorités d'amélioration (figure 4).

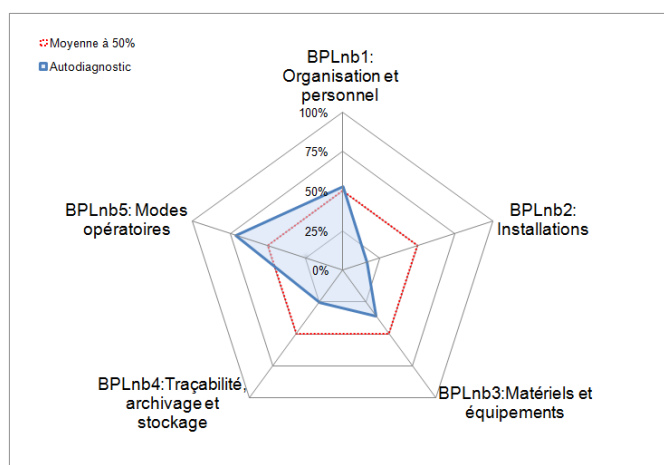


Figure 4 : Exemple graphique d'un autodiagnostic montrant des priorités d'amélioration nécessaires sur 3 BPLnb [7]

5. **Onglet "Retour d'expérience"**: il aide l'utilisateur à noter les points de dysfonctionnement qu'il a repéré suite aux résultats qu'il a obtenus. Ceci, dans le but d'améliorer le processus mis en place mais aussi l'outil d'évaluation lui-même.

Conclusion

Dans le cadre d'une démarche qualité en recherche biologique ou biomédicale, un avenant aux Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL) de l'OCDE est proposé aux différentes unités manipulant les nanobiotechnologies. Suite à une analyse des risques, de nouvelles propositions spécifiques aux nanobiotechnologies (BPLnb..) sont faites sur 5 des 10 chapitres de Bonnes Pratiques de Laboratoire :

- BPLnb1 : Organisation et personnel
- BPLnb2 : Installations
- BPLnb3 : Matériels et équipements
- BPLnb 4 : Modes opératoires
- BPLnb5 : Traçabilité, archivage et stockage

Un outil d'autodiagnostic associé à cet avenant est également proposé afin de mettre en place une démarche d'amélioration continue au sein des laboratoires ou services concernés. La mise en place, le suivi et l'amélioration continue des pratiques permet de garantir la fiabilité des résultats obtenus en laboratoire tout en garantissant la sécurité du personnel et de l'environnement à travers une réduction des risques potentiels liés à la manipulation des nanobiotechnologies. Ceci permet également de renforcer la confiance vis à vis des chercheurs et du monde de la recherche pour mieux répondre aux enjeux scientifiques, éthiques, sociétaux et environnementaux.

Références bibliographiques

- [1] Agence Française de Sécurité Sanitaire de l'Environnement et du Travail. Les nanomatériaux sécurité au travail, Juillet 2008, www.ladocumentationfrancaise.fr/rapports, site consulté le 09/10/10
- [2] Société Générale de Surveillance. Etudes BPL (Bonnes Pratiques de Laboratoire) : Intégrez l'expertise SGS Multilab, mai 2004, n°27, www.fr.sgs.com, site consulté le 09/10/10
- [3] Publications de l'OCDE sur l'hygiène et la sécurité de l'environnement, Série sur les principes de Bonnes Pratiques de Laboratoire et vérification du respect de ces principes Numéro 1 : Les principes de l'OCDE de Bonnes Pratiques de Laboratoire (telle que révisés en 1997), Paris 18 mars 1998, www.ocde.org, site consulté le 11/10/10
- [4] FD X50-550, Démarches Qualité en Recherche - Principes Généraux et Recommandation, Ed Afnor, octobre 2001, www.afnor.org
- [5] J.P DUPUY, F. ROURE, Les nanotechnologies : Ethique et perspectives industrielle, Conseil Général des Mines, 2004, www.ladocumentationfrancaise.fr/rapports-publics, site consulté le 05/01/11
- [6] Outil d'autodiagnostic pour les Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL), AYOUB N., BOU KHEIR C., HANDOUF S., UTC, 2009-2010, www.utc.fr/master-qualite, "Travaux" puis "Management Qualité", réf n°120, site consulté le 22/10/10
- [7] Propositions d'évolution de bonnes Pratiques de Laboratoires en nanobiotechnologies, M. KAHL, A. MOUNGUENGUI, J. TURK, Projet d'Intégration, MASTER Management de la Qualité (MQ), Mastère Spécialisé Normalisation, Qualité, Certification, Essai (NQCE), UTC, 2010-2011 www.utc.fr/master-qualite/, "Travaux" puis "Management Qualité", réf n°165, site consulté le 22/01/11
- [8] Nanoparticules et santé au travail, www.suva.ch/nanoparticules, site consulté le 05/01/10