

Précis d'hygiène et sécurité de la cytométrie en flux



Les Risques en CMF

✧ **Risque biologique & chimique** ✧

✧ **Risque électrique** ✧

✧ **Risque laser** ✧

✧ **Risque auditif** ✧



Risque biologique & chimique



Risques biologiques

Lié à la nature des échantillons
(suspensions biologiques
contaminées)

Echantillons humains

Risques chimiques

Fluorochromes
Agents intercalants de l'ADN
Fixateurs toxiques et/ou mutagènes

Règles à respecter

Règles fondamentales de prévention en laboratoire :
port des gants et de la blouse;
interdiction de fumer , de manger, de boire ou de se maquiller;
lavage des mains après chaque manipulation.



Risque biologique & chimique



En amont du cytomètre

Les échantillons biologiques, à analyser ou à trier, doivent être maintenus et acheminés sur le plateau dans un emballage étanche (si possible incassable et balisé par un logo).



Risque biologique & chimique



Au niveau du cytomètre

- ✖ Il est indispensable que le personnel du plateau soit informé de la nature exacte de l'échantillon à analyser.
- ✖ Chaque fois que cela est possible, les agents contaminants connus doivent être inactivés.
- ✖ Lorsque l'expérience le permet, il est préférable de travailler avec des échantillons fixés.
- ✖ Dans le cas de tri cellulaire avec remise en culture, où il n'y a pas de fixation préalable, il convient de travailler avec un système de confinement d'aérosol (ex aérosol management sur les trieurs FACSARIA).



Risque biologique & chimique



Au niveau du cytomètre

Risque principal du tri cellulaire

Induit par les aérosols générés lors du tri :

Génération de gouttelettes “Normales” : Petites (40-200 μ m) et Satellites (3-7 μ m);

Le “splash” dans le réceptacle pour la collecte;

Problème instrumental (bouchage);

Le tri à haute vitesse / haute pression augmente le risque;

L'ensemble des tubulures du cytomètre doit être quotidiennement rincé par un détergent et décontaminé par de l'eau de javel à 3%.



Risque biologique & chimique



En aval du cytomètre

Les déchets biologiques liquides doivent être récupérés à la sortie de l'appareil dans des récipients contenant de l'eau de javel à 3%.

Si les échantillons contiennent des fluorochromes mutagènes ou cancérogènes, les déchets liquides doivent être décontaminés (ex : Iodure de Propidium).

On peut éliminer l'IP par une absorption sur charbon activé, suivie d'une incinération.



Risque électrique



En cytométrie en flux, les risques électriques sont différents suivant que l'on travaille avec un analyseur ou un trieur de cellules.

Dans les deux cas, la proximité de liquide et d'électricité impose une installation bien protégée.

La présence d'un coupe circuit général d'urgence apporte un plus à la sécurité de l'utilisateur.

Analyseur

Dans le cadre de l'utilisation d'un analyseur, les mesures de sécurité à prendre sont celles concernant tous les appareils électriques.



Risque électrique



Trieur

Dans le cadre d'un trieur, certaines règles supplémentaires doivent être appliquées. En effet, lors d'un tri, le système de déflexion des gouttelettes repose sur l'utilisation d'électrodes maintenues sous haute tension.

Les trieurs appliquent une charge électrique au jet pour dévier les gouttelettes à trier de $\sim \pm 200$ V (courant alternatif): les risques dans ce cas étant la présence d'arcs électriques.

Sur les nouveaux trieurs, un témoin lumineux de haute tension met en garde l'opérateur

La génération d'un arc résulte de plaques de déflexion électriques humides.

Pour y remédier, il faut :

- Arrêter l'alimentation des plaques
- Enlever les plaques et les sécher
- Remonter les plaques
- Reprendre le tri





Risque électrique



Conclusion

En conclusion, il apparaît que le risque électrique est quasiment nul pour un analyseur en condition normale d'utilisation mais qu'il est plus important pour un trieur, de par une plus grande accessibilité des électrodes lors d'un tri.



Risque d'irradiation par les lasers



Il convient de distinguer les lasers installés sur les **analyseurs**, dont le faisceau n'est pas visible par l'expérimentateur, de ceux installés sur les **trieurs** où sont prévues aujourd'hui des sécurités efficaces.

Cependant, sur un trieur, il peut être nécessaire de manipuler le laser et de le mettre au jour.

C'est lors de cette situation que les risques suivant existent :



Risque d'irradiation par les lasers



×Risques optiques

Un faisceau ne doit jamais atteindre l'œil directement ou par réflexion (attention aux bijoux, stylos, outils, miroirs, peinture des murs doit être mate)

- ☛ Port de lunettes de protection obligatoire.

Cependant les lunettes ne suppriment pas totalement le risque optique mais l'atténuent de façon importante : elles peuvent réfléchir le faisceau sur d'autres personnes dans la pièce. C'est pourquoi il est recommandé d'utiliser des lunettes qui absorbent le faisceau.

Attention au port des lentilles de contact qui peuvent entraîner, lors d'un éclairnement accidentel, une combustion du « plastique cornéen » très grave.

C'est pourquoi, lors d'alignements du laser ou lors de maintenances, il faut :

- ☛ Interdire l'entrée dans la pièce de personnes non prévenues.
- ☛ Etre seul dans la pièce ou faire bénéficier son entourage de protection (lunettes etc..).
- ☛ Supprimer toute possibilité pour le faisceau de sortir de la pièce (fenêtres, réflexions).
- ☛ Une indication doit être mise en place sur la porte de la pièce pour signaler que le laser est utilisé dans des conditions exceptionnelles.
- ☛ Ce genre d'intervention doit être effectué par un personnel compétent, formé et informé.

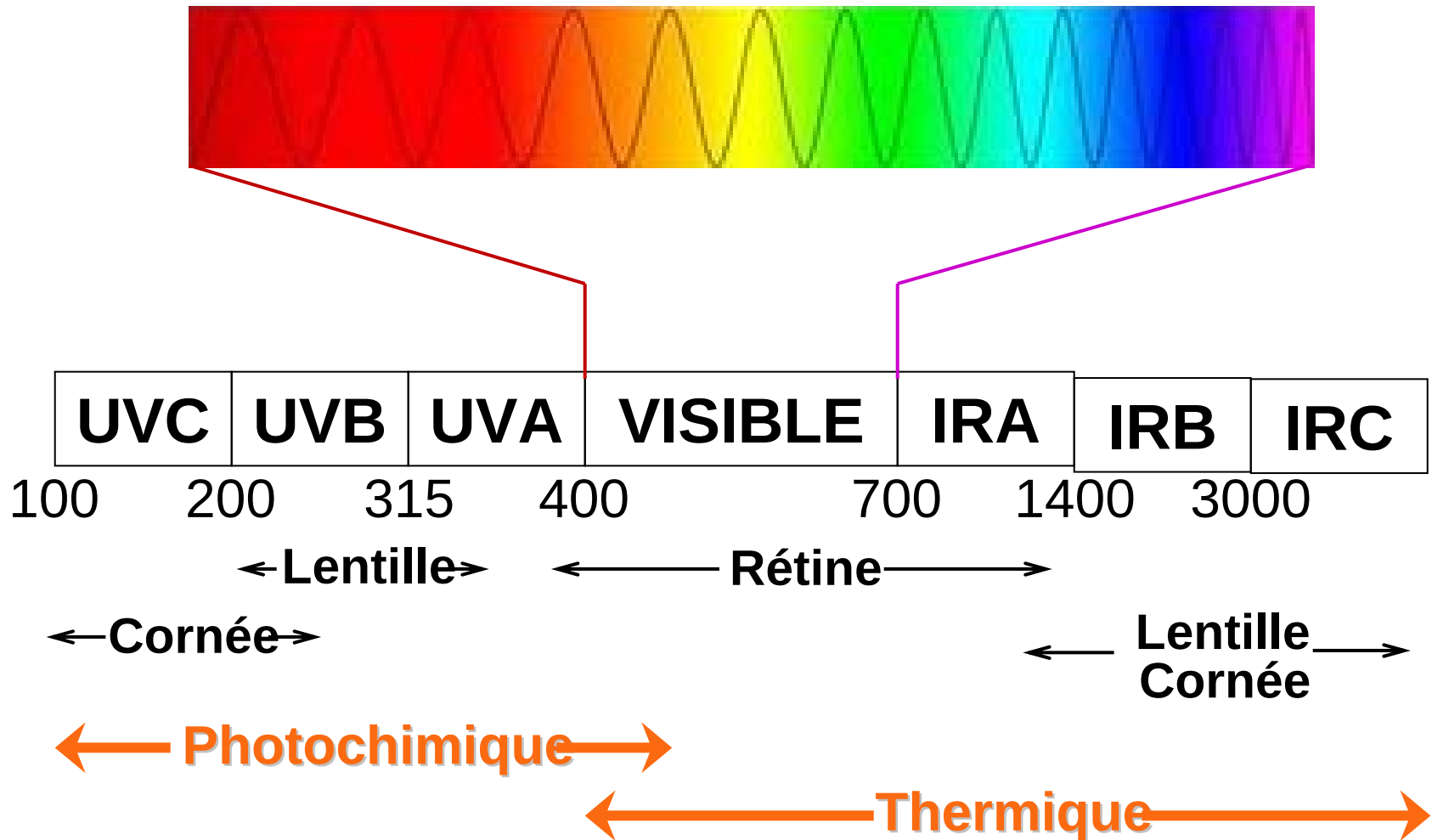
× Risques de brûlures



Risque d'irradiation par les lasers



Résumé des longueurs d'onde à risque pour les structures de l'oeil





Risque d'irradiation par les lasers



Classement des lasers

Classe	Description	Puissance (mW) Lasers continus, Visibles (0.4 - 0.7 μ m)
I	Pas de danger	< 0.5
II	Danger si longue exposition	0.5 – 1.0
III	Dangereux par lumière directe & réflexion	
IIIa	Idem	1.0 – 5.0
IIIb	Idem	5.0 – 500.0
IV	idem	> 500.0



Risque auditif



Les problèmes auditifs que peut entraîner l'utilisation d'un cytomètre sont:

✖ Le **niveau sonore** parfois trop élevé :

L'utilisation d'un cytomètre peut entraîner des problèmes auditifs.

En effet, les niveaux d'exposition quotidienne (8 heures) compatibles avec la protection de l'ouïe sont fixés à 85 dB (côte d'alerte) et 90 dB (côte de danger) par l'article R232-8-3 du décret du 21 avril 1988.

Des mesures en laboratoire de cytométrie en flux ont montré un niveau sonore d'environ 70 dB en configuration de fonctionnement.

Cependant, si la pratique de la cytométrie en flux ne présente pas de risque de surdité pour l'expérimentateur, le niveau sonore relevé peut provoquer une certaine nuisance (fatigue, diminution de la vigilance, ... au dessus de 60 dB).

Pour améliorer de manière sensible les nuisances sonores dans l'enceinte de travail, il faut:

- Pour les appareils, utiliser de l'air comprimé provenant du bâtiment, si cela est possible afin d'éviter d'avoir le bruit des compresseurs.
- Insonoriser les systèmes de ventilation nécessaires au refroidissement de l'informatique par capotage.



Risque auditif



- ✖ La possibilité de générer des **fréquences** basses :

L'utilisation des ultrasons (indispensables lors du tri de particules) générés par le système piézoélectrique ne présente aucun risque majeur.

Cependant, il est important de noter qu'aucune protection n'est prévue sur la plupart des trieurs et que l'opérateur peut accidentellement accéder à ces basses fréquences (< 22KHz) très nocives.