



## SITUATION PROFESSIONNELLE DANS LE SECTEUR DU LABORATOIRE

## Repiquage de cellules sous PSM

Damien, étudiant de première année en BTS biotechnologies réalise le repiquage d'une lignée continue de cellules Vero en milieu DMEM complet (DMEM - glutamine – pénicilline - sérum de veau fœtal). Cette lignée est isolée à partir de cellules épithéliales de rein d'un singe vert d'Afrique immortalisées expérimentalement.



© 3RB 2017



© 3RB 2017

### ANALYSE DE LA SITUATION DE TRAVAIL

1. Observer et décrire avec précision la situation de travail. Exemples de méthodes pouvant être utilisées : 5M (Main d'œuvre, Milieu, Méthode, Matériel, Matière), ITMaMi (Individus, Tâches, Matériel, Milieu)...
2. Identifier les dangers spécifiques à la situation de travail.

### DEMARCHE DE PREVENTION DU RISQUE BIOLOGIQUE

3. Repérer dans la chaîne de transmission : agent(s) biologique(s) et réservoir(s), voie(s) d'exposition.
4. Identifier la (les) situation(s) exposante(s) au danger.
5. Identifier le (les) événement(s) déclencheur(s).
6. Lister le (les) dommage(s) possible(s).
7. Proposer des mesures de prévention : intrinsèque, collective, individuelle, instruction / information / formation.

### ANALYSE GLOBALE DE LA SITUATION DE TRAVAIL

#### Description de la situation de travail (5Mi)

**Main d'œuvre** : Damien, étudiant de première année en BTS Biotechnologies

**Milieu** : laboratoire d'enseignement de confinement 2

**Méthode** : repiquage d'un flacon de culture de cellules adhérentes par décollement à l'aide de trypsine-EDTA et arrêt du décollement avec du DMEM complet

#### Matériel :

- Matériel à usage unique (flacon de culture, tube à hémolyse, pipettes, hématimètres)
- Matériel réutilisable : auxiliaire de pipetage
- Milieu DMEM complet (DMEM + glutamine + pénicilline + sérum de veau fœtal), trypsine EDTA
- Matériel d'analyse : étuve à CO<sub>2</sub>, microscope inversé, poste de sécurité microbiologique (PSM)
- Essuie tout à usage unique
- Détergent désinfectant
- Conteneur à DASRI

**Matière** : culture de cellules Vero à confluence

<b>Identification des dangers spécifiques de la situation de travail</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Danger biologique : agents biologiques pathogènes potentiellement présents dans la culture de cellules et dans le sérum de veau fœtal</li> </ul>
--	---

## DEMARCHE DE PREVENTION DU RISQUE BIOLOGIQUE

<b>Repérage dans la chaîne de transmission</b>	<p><b>Agents biologiques :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ transmissibles par des cultures de cellules simiennes : même si les cellules Vero sont exemptes de virus, la probabilité de multiplication d'agents biologiques contaminants au sein de la culture est difficile à évaluer</li> <li>▪ potentiellement contenus dans le sérum de veau fœtal (dont prions)</li> </ul> <p><b>Réservoir :</b> cellules en culture, surnageant de culture, DMEM complet</p> <p><b>Voie d'exposition :</b> cutanéomuqueuse, digestive, aéroportée selon le virus contaminant</p>
<b>Identification de la (des) situation(s) exposante(s) au danger</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Gestion du flacon de culture: transport, ouverture</li> <li>▪ Prélèvement du surnageant ou des cellules en suspension</li> <li>▪ Dénombrement des cellules</li> <li>▪ Élimination des déchets : pipettes, flacon, tube etc...</li> <li>▪ Nettoyage désinfection des objets réutilisables et du plan de travail</li> </ul>
<b>Identification du (des) évènement(s) déclencheur(s)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Contacts cutanés avec le surnageant de culture ou les cellules en suspension <ul style="list-style-type: none"> <li>- projeté lors de l'ouverture du flacon</li> <li>- présent accidentellement sur l'extérieur du flacon de culture, sur la paillasse, le matériel, les gants et les déchets (papier d'essuyage)</li> </ul> </li> </ul>
<b>Identification du (des) dommage(s)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Maladies infectieuses</li> <li>▪ Encéphalopathies spongiformes bovines</li> </ul>
<b>Proposition de mesures de prévention</b>	<p><b>Prévention intrinsèque :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Utilisation de produit et matériel adaptés : sérum de veau fœtal stérilisé (vérifier la fiche de données sécurité), pipettes en plastique à usage unique, hématimètre à usage unique et auxiliaire de pipetage dédié et désinfecté avant l'introduction sous le PSM</li> <li>▪ Utilisation de techniques adaptées</li> <li>▪ Aménagement de l'espace de travail (étuve, microscope et PSM à proximité)</li> </ul> <p><b>Protection collective :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Nettoyage et désinfection du PSM et du matériel avant et après manipulation (pour éviter la contamination des cultures par des virus)</li> <li>▪ Utilisation de PSM et d'étuve différents pour le repiquage de cellules et pour la manipulation de microorganismes</li> <li>▪ Tri et gestion adaptés des déchets contaminés par la filière DASRI</li> </ul> <p><b>Protection individuelle :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Élimination immédiate des déchets contaminés (effluents, pipettes) dans le conteneur à DASRI placé sous le PSM</li> <li>▪ Lavage des mains en cas de contact cutané</li> </ul> <p><b>Instruction / Information / Formation :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Formation à la démarche de prévention aux risques biologiques</li> <li>▪ Mise à disposition et respect de la procédure «Gestion des déchets»</li> <li>▪ Mise à disposition de la procédure «Conduite à tenir en cas d'exposition à des produits biologiques contaminants»</li> </ul>