

La démarche de prévention débute par une analyse de la situation de travail : locaux, matériels, produits manipulés, niveau de formation des manipulateurs et protocole technique de manipulation.

Dans le cadre des analyses proposées, les produits biologiques utilisés contiennent ou sont susceptibles de contenir des agents biologiques pathogènes qui constituent le **DANGER**.

Puis, l'analyse de chaque étape du protocole permet d'identifier les **SITUATIONS EXPOSANTES** et de préciser le(s) **EVENEMENT(S) DECLENCHEUR(S)** pouvant survenir afin de mettre en place des **MESURES PREVENTIVES** spécifiques.

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.



Étape préliminaire

Préparation

- du poste de travail,
- des matériels,
- des produits.

- Nettoyer les surfaces internes de l'enceinte du PSM.
- Mettre le PSM en fonctionnement 15 minutes avant la manipulation. (**Utilisation d'un PSM**).
- **Organiser le poste de travail** en limitant l'encombrement, en préservant les zones d'aspiration et en plaçant, dans l'enceinte, un conteneur pour déchets contaminés.
- Introduire, sous le PSM, les produits et le matériel (réactifs, auxiliaire de pipetage, pipettes, tubes, ...) après nettoyage.
- **Se laver des mains et les avant-bras** avant la manipulation.

Protocole technique

Situations exposantes	Évènements déclencheurs	Mesures préventives
<ul style="list-style-type: none"> Transport du flacon de cellules à repiquer de l'étuve à CO₂ au microscope inversé puis sous le PSM. 	<ul style="list-style-type: none"> Contacts cutanés avec des souillures de liquide biologique présentes sur le flacon ou le matériel (microscope, étuve) suite à des fuites ou contaminations 	<ul style="list-style-type: none"> Veiller à revisser le bouchon à la sortie de l'étuve. Placer le microscope inversé à proximité.
<ul style="list-style-type: none"> Ouverture du flacon 	<ul style="list-style-type: none"> Contacts cutanés avec des projections de surnageant de culture lors du retrait du bouchon 	<ul style="list-style-type: none"> Positionner le flacon debout sur le plan de travail. Dévisser le bouchon et le placer retourné loin de la zone de manipulation.
<ul style="list-style-type: none"> Aspiration et éjection des liquides (usagé, de rinçage...) 	<ul style="list-style-type: none"> Contacts cutanés avec des projections de liquide biologique suite à la surpression 	<ul style="list-style-type: none"> Utiliser du matériel plastique à usage unique : pipettes adaptées sur des auxiliaires de pipetage. Faire couler doucement les liquides dans le contenant (boîte de culture, conteneur à déchets liquides).
<ul style="list-style-type: none"> Prélèvement d'un aliquote et dénombrement de la suspension en hématimètre 	<ul style="list-style-type: none"> Contacts cutanés avec des projections de liquide biologique 	<ul style="list-style-type: none"> Utiliser du matériel plastique à usage unique : pipettes adaptées sur des auxiliaires de pipetage, tube avec milieu, hématimètre
<ul style="list-style-type: none"> Ensemencement d'un nouveau flacon 	<ul style="list-style-type: none"> Contacts cutanés avec des projections de liquide biologique 	<ul style="list-style-type: none"> Utiliser du matériel plastique à usage unique : pipettes adaptées sur des auxiliaires de pipetage
<ul style="list-style-type: none"> Gestion, après usage, du matériel à usage unique 	<ul style="list-style-type: none"> Contacts cutanés lors de la manipulation de matériel souillé 	<ul style="list-style-type: none"> Éliminer immédiatement dans un conteneur à DASRI placé à proximité.
<ul style="list-style-type: none"> Transport du flacon de repiquage vers l'étuve à CO₂ 	<ul style="list-style-type: none"> Contacts cutanés avec des souillures présentes sur le flacon en cas de fuite 	<ul style="list-style-type: none"> Visser le bouchon pour le transport puis le dévisser avant la mise à l'étuve s'il n'est pas équipé d'un filtre.

Étape finale

Situations exposantes	Évènements déclencheurs	Mesures préventives
<ul style="list-style-type: none"> Remise en état du poste de travail 	<ul style="list-style-type: none"> Contacts cutanés lors de l'élimination de matériel souillé de liquide biologique 	<ul style="list-style-type: none"> Éliminer les déchets et ranger le poste de travail.
	<ul style="list-style-type: none"> Contacts cutanés avec du matériel réutilisable ou le plan de travail souillé de liquide biologique 	<ul style="list-style-type: none"> Nettoyer et désinfecter l'enceinte du PSM. Se laver des mains.