

GROUPE DE REFLEXION SUR LA BIOSÉCURITÉ DE L'ASSOCIATION FRANCAISE DE CYTOMÉTRIE (AFC) : RECOMMANDATIONS POUR LE TRI PAR CYTOMÉTRIE DE FLUX

Muriel Andrieu, Thibault Andrieu, Jan Baijer Catherine Blanc, Pierre-Henri Commère, Céline Couturier, Christophe Duperray, Coralie Guérin, Philippe Lefebvre, Julien Picot, Peggy Sanatine et Griselda Wentzinger.

Introduction

Le groupe biosécurité de l'AFC est né en 2015 dans le but de réunir toutes les compétences nécessaires à la rédaction d'un guide de bonnes pratiques du tri labellisées par l'AFC. Dans un premier temps, le groupe s'est attaché à évaluer les risques liés au tri par cytométrie en flux, en particulier lié à la génération d'aérosols. Dans ce cadre plusieurs études ont été conduites précédemment (J. Simons *et al.* AFC Strasbourg 2013, J. Bayer *et al.*, AFC-SFI Lille 2014). Nous rapportons ici les derniers résultats obtenus avec un compteur de particules aéropartées, le Fluke 985 (Fluke Corporation, distribué par Distrame, Troyes, France).

Matériels et Méthodes

Les tests ont été effectués en double sur 2 ARIA III (BD BIOSCIENCES) placés sous une enceinte de sécurité de type HBOX 17-11 (Noroit, Bouaye, France). Pour les tests, le système anti-aérosols de la société Buffalo (AMO) était arrêté (figures 1A et 2) ou en marche à 20% pendant le tri (figure 1B) puis à 100% après un incident provoqué manuellement (figure 1B). L'incident consiste en une déviation du jet sur la paroi de la poubelle provoquant la génération de larges aérosols. Le compteur de particules (Fluke 985) a été utilisé selon la méthode décrite par Xie et Waring (Cytometry part A 2015). Cet appareil permet de quantifier toutes les microparticules comprises entre 0,3 et 10 µm. Le Fluke a ensuite été placé devant la chambre de tri pour les mesures en situation normale ou accidentelles (image 1). Les tris de microparticules ont été récoltés en portoir 4 tubes (figure 1) ou à l'aide d'un portoir de plaque (figure 2).



Image 1 : système Fluke de mesure des microparticules contenues dans l'air.

Résultats

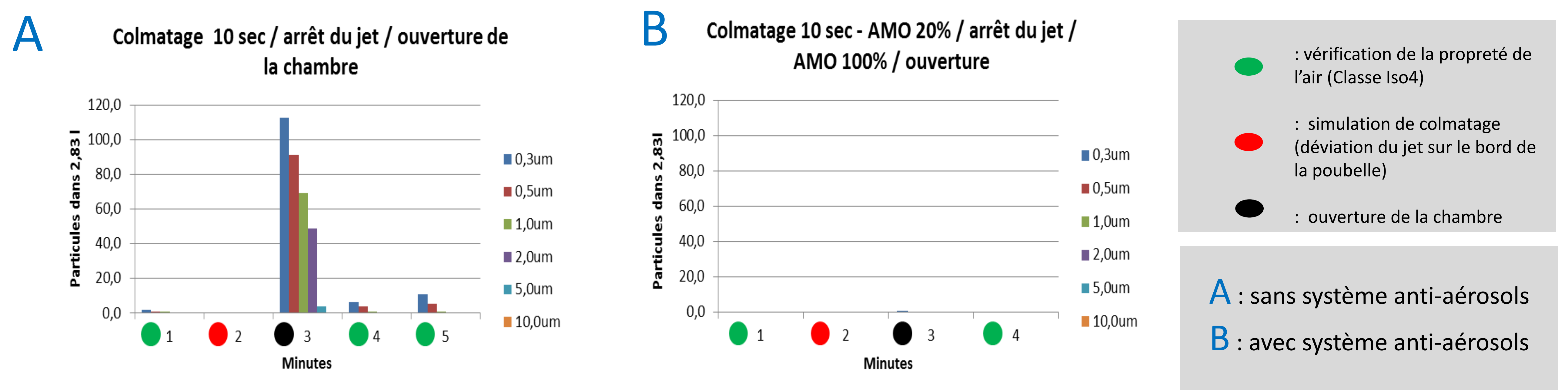
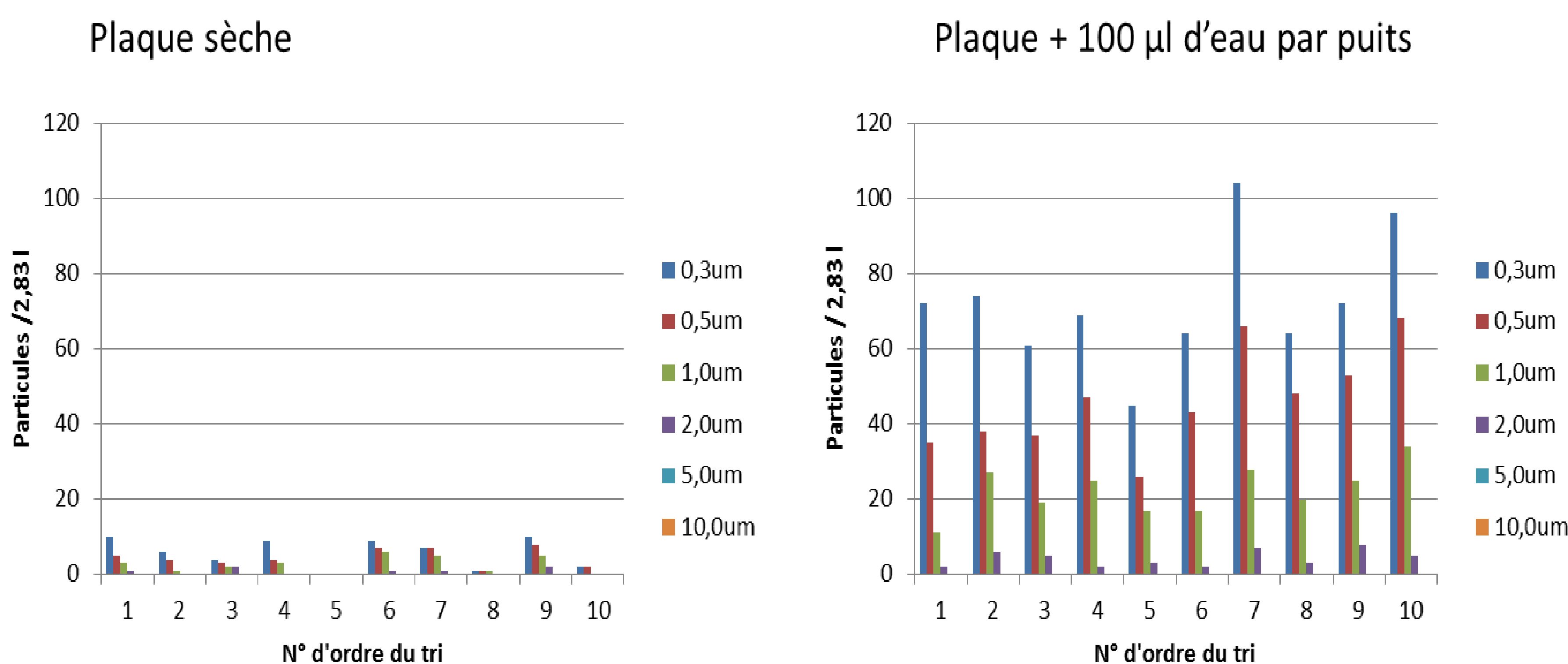


Figure 1 : Mesure de l'échappement des aérosols après incident et ouverture de la chambre de tri.

Sous Enceinte de sécurité, lorsque le compteur Fluke 985 est placé devant la chambre aucune microparticule n'a été détectée en situation normale de tri, ni lors d'incidents tant que la chambre de tri était fermée. Par contre, si la chambre de tri est ouverte une minute après incident les mesures montrent que des microparticules s'échappent si le système anti-aérosols est éteint mais pas lorsque celui est utilisé (à 20% pendant le tri puis environ une minute à 100% après incident et avant ouverture). Cependant, même en absence du système anti-aérosols, les particules disparaissent en une minute.



Durée des tris : 100 secondes
Durée enregistrement : 120 secondes
AMO éteint

Les comptages montrent que les aérosols sont présents uniquement pendant la phase de tri. On notera que les aérosols ne sont produits que lorsque le tri est réalisé dans des plaques contenant du milieu, ceci est probablement dû à l'impact de la goutte triée dans le liquide du puits.

Figure 2: Mesure des aérosols lors de tris en plaque (durée du tri 100 sec)

Conclusions et recommandations

Nous avons ainsi mis en évidence que des aérosols peuvent être retrouvés hors de la chambre de tri lors de tris en plaque ou lors de l'ouverture de la chambre de tri après incident ; ces aérosols sont rapidement éliminés lorsque l'instrument se trouve sous une enceinte de sécurité. Ces résultats complètent ceux obtenus précédemment par Bayer *et al.* (AFC-SFI Lille 2014). Ils nous conduisent à émettre les recommandations suivantes en matière de sécurité entourant l'utilisation des trieurs de cellules :

- placement des instruments de tri en laboratoire de sécurité biologique en adéquation avec la classe de risque des cellules manipulées et ;
- placement des instruments sous enceinte de confinement répondant à la norme EU12469 en matière de protection des opérateurs.