



## Recommandations du groupe Biosécurité de l'AFC

### Cytométrie en flux et prélèvements humains primaires COVID-19 positifs ou non

Le contexte sanitaire actuel nous impose de rappeler que tout échantillon humain primaire doit être considéré comme potentiellement infectieux. Les recommandations actuelles pour la manipulation de ces échantillons sont de travailler à minima **dans un laboratoire de confinement de niveau 2, manipulation sous PSM de type II**, de porter des Equipements de Protection Individuelle (EPI, ici blouse, gants, lunettes) et de respecter les pratiques opératoires en vigueur dans le laboratoire de confinement (EPI, manipulation, désinfection, traitement des déchets...) (1-2).

Dans ce contexte, il est nécessaire et important de prendre en considération **le risque supplémentaire engendré par la génération d'aérosol par les cytomètres** (3-6) :

- les cytomètres trieurs en flux génèrent des aérosols qui sont contenus dans la chambre de tri en fonctionnement normal, mais en cas d'incident (bouchage, perturbation du flux), la quantité d'aérosols augmente fortement et ils peuvent se retrouver hors de la chambre de tri (qu'on aura de plus tendance à ouvrir pour résoudre l'incident).
- certains cytomètres analyseurs et trieurs, en pressurant les tubes d'acquisition, provoquent une production d'aérosols lors du retrait du tube
- des aérosols sont aussi générés lors de l'ouverture du tube vortexé extemporanément et débouché pour être introduit dans le cytomètre analyseur.

En conséquence, pour empêcher la diffusion de ces aérosols, **nous recommandons** :

**Pour les échantillons humains primaires non fixés :**

- **Manipulation des échantillons à minima dans un laboratoire de confinement de niveau 2**
- **Placement des cytomètres analyseurs et trieurs sous un PSM de type II.**
- **Port de masque FFP2 obligatoire**
- **Port de lunettes de protection et d'une 2<sup>ème</sup> paire de gant**, en plus des autres EPI (blouse, gants).

**Pour les échantillons humains primaires fixés :**

- Analyse en laboratoire L1 et sans enceinte de sécurité.
- Port d'EPI appropriés (blouse, gants, lunettes de protection)

#### Recommandations générales

- 1- Identifier le matériel manipulé : les plateformes doivent connaître en amont la nature du matériel biologique qui entre dans leurs laboratoires par le biais d'une déclaration d'activité complétée par les utilisateurs, et déterminer le niveau de confinement adapté.
- 2- Evaluer le risque biologique et transcrire les résultats dans un document unique :
- 3- Se doter de l'ensemble des procédures nécessaires pour la réalisation des activités de cytométrie et de tri. Les procédures doivent être validées par le responsable d'équipe, le chargé de prévention et le personnel.
- 4- Avoir un personnel formé et compétent pour ces activités (disposer de justificatifs de formation).
- 5- Porter les équipements de protection individuelle (EPI) en rapport avec le risque biologique évalué et le niveau de confinement du laboratoire pour l'opérateur et les intervenants.

- 6- Le port d'un masque FFP2 et de lunettes de sécurité devrait également être obligatoire lors de la manipulation des échantillons humains (y compris en L2, déjà obligatoire en L3).
- 7- Disposer d'un système de contrôle qualité pour le bon fonctionnement des cytomètres et des équipements de sécurité (PSM de type II, système anti- aérosols ...). Les PSM de type II doivent en particulier subir une vérification périodique réglementaire annuelle.
- 8- Veiller à la bonne qualité des échantillons, ceux-ci doivent être filtrés ; en cytométrie les suspensions de cellules doivent être parfaitement mono-dispersées (filtration, température, agitation ...).
- 9- Nettoyer les surfaces avant et après l'activité avec de l'éthanol à 70 % (15min de contact), l'eau de javel à 2,6% diluée au 1 :10 (15min de contact), ou autre désinfectant approuvé.
- 10- Assurer la traçabilité de traitement des déchets

#### Recommandations pour la biosécurité des trieurs :

Placement des cytomètres-trieurs en laboratoire de sécurité biologique en adéquation avec le risque des cellules humaines manipulées et sous un PSM de type II répondant à la norme NF EN 12469 (AFNOR) en matière de protections des opérateurs et vérifié annuellement.

En cas d'incident, il est recommandé de ne pas ouvrir la chambre immédiatement. Le temps d'attente nécessaire peut être déterminé par un compteur Fluke 985 (ou équivalent) (3) ; ce temps pourra être fortement réduit si un système d'aspiration des aérosols est utilisé (afficher cette consigne à proximité de l'appareil).

#### Recommandations pour la biosécurité des analyseurs :

Pour les analyseurs, le risque est localisé à l'ouverture du tube après homogénéisation avant présentation au cytomètre et lors du retrait si le tube est pressurisé pendant l'acquisition.

Par conséquent, la fixation des cellules avant leur passage sur le cytomètre sera toujours privilégiée. Lorsque cela n'est pas possible (mesure de flux calcique, fluorochromes instables à la fixation...), le confinement du risque "aérosols" nécessitera le placement du cytomètre sous un PSM de type II dans un laboratoire de confinement adapté au risque biologique évalué.

**Muriel Andrieu**, Coordinatrice du [Groupe Biosécurité de l'AFC](#)  
en partenariat avec,

**Sylvie Ben Slama**, Chargée de mission aux risques biologiques BCPR\_DRH INSERM

**Isabelle Vassias**, Ingénieure de prévention des risques- CNRS\_Délégation Paris Centre

**Soraya Nebbache**, Directrice de Prévention des risques professionnels - Sorbonne Université

**Finalisé le 24/06/2020**

#### **Références :**

1. [Risque biologiques : cahiers de prévention santé, sécurité, environnement. CNRS, édition mai 2017.](#)
2. [Arrêté du 16 juillet 2007](#) fixant les mesures techniques de prévention, notamment de confinement, à mettre en œuvre dans les laboratoires de recherche [...] où les travailleurs sont susceptibles d'être exposés à des agents biologiques pathogènes
3. Andrieu A, Chapitre 29 "Biosécurité et Cytométrie en flux", La Cytométrie en Flux – 2e édition, éditeur Lavoisier, sous presse 2020
4. [Holmes, K.L. \(2011\) Characterization of aerosols produced by cell sorters and evaluation of containment. Cytometry A 79\(12\), 1000-1008.](#)
5. [Cossarizza, A., Gibellini, L., De Biasi, S., Lo Tartaro, D., Mattioli, M., Paolini, A., Fidanza, L., Bellinazzi, C., Borella, R., Castaniere, I., Meschiari, M., Sita, M., Manco, G., Clini, E., Gelmini, R., Girardis, M., Guaraldi, G. and Mussini, C. \(2020\) Handling and Processing of Blood Specimens from Patients with COVID-19 for Safe Studies on Cell Phenotype and Cytokine Storm. Cytometry A.](#)
6. ISAC Biosafety Standards <https://isac-net.org/page/Biosafety>