

MISE EN FORME DES REPONSES  
AUX SIX COMMISSIONS  
DU SEMINAIRE NATIONAL  
DES CORRESPONDANTS  
DU 15 DECEMBRE 2000



Remarques :

**Les réponses écrites**

- ↪ **en rouge ont fait l'objet d'un consensus**
- ↪ **en vert ont été discutées**
- ↪ **en bleues restent des propositions du 3RB soumises à discussion.**
- ↪ **En mauve les modifications du groupe des inspecteurs**

# 1 Commissions « Personnes »

## 1. Vaccinations : Nature et prise en charge ?

Les vaccinations nécessaires sont indiquées dans le site 3RB dans la rubrique documents de synthèse. Toutefois, il convient de préciser que :

- ❖ Le Typhim Vi protégeant uniquement contre *S Typhi* n'est nécessaire que pour les élèves effectuant un stage en laboratoire d'analyses médicales, la manipulation de cette bactérie étant interdite dans les laboratoires d'enseignement.
- ❖ La vaccination contre le VHB est obligatoire pour toute personne manipulant du sang humain ou dérivés et il n'existe pas de dérogations. La prise en charge financière est effectuée par l'établissement scolaire.

Voir le site 3RB pour les textes juridiques (article L10 du code de la santé publique Loi du 18/01/91).

Propositions :

Photocopie du carnet de vaccination dans le dossier d'inscription.

Information en début d'année de pathologies éventuelles (allergies, immunodépression temporaire ou définitive, diabète,...).

## 2. Premiers soins et trousse de secours ?

Un enseignant peut et doit donner les premiers secours car dans le BO HS du 6/01/2000, il est indiqué :

« En l'absence des infirmières et des médecins, les soins et les urgences, à l'exception de la contraception d'urgence sont assurés par des personnes titulaires soit de l'attestation de formation des premiers secours (AFPS) soit du certificat de sauvetage Secourisme du Travail (SST). Toutefois, il convient de rappeler qu'il appartient à chacun de porter secours à toute personne en danger. »

En vertu de ce texte, il semble indispensable que les professeurs aient accès à la formation SST et que soit disponible une trousse de secours minimale comportant un antiseptique (HEXOMEDINE 1/100<sup>ième</sup>), des compresses, des pansements et des gants.

Il est indispensable que l'incident soit communiqué à la famille par le biais du livret de correspondance.

Le texte précité met en outre l'accent sur l'importance :

- ❖ D'avoir des consignes précises et affichées sur la conduite à tenir en cas d'urgence
- ❖ De faire appeler le SAMU (15) par l'administration (CPE) ou tout adulte de la communauté éducative en l'absence de l'infirmière.

BO du 06/01/2000 : règles à suivre en matière de premiers secours

## 3. Refus de scolarisation pour problèmes médicaux spécifiques (épilepsie, allergie, nanisme ...) ?

De façon générale, il n'existe aucun texte permettant de refuser la scolarisation d'élèves en invoquant la sécurité, à une exception près :

# 1 Commissions « Personnes »

l'épilepsie.

- ❖ Nanisme (myopathie, surdité etc...) : pas de refus systématique dès lors que la motivation des élèves les fait choisir cette filière malgré la réticence de l'établissement.
- ❖ Allergie : pas de refus et l'établissement doit proposer des mesures permettant de minimaliser toutes les expositions allergènes.
- ❖ Epilepsie : maladie explicitement citée dans le Code du Travail imposant formellement l'interdiction de travail sur machines dangereuses. Le flou réside quant à l'application à nos laboratoires. Il importerait donc au service médical du rectorat de prendre la décision finale.

Il apparaît clairement que l'établissement doit dialoguer avec les familles et faire accepter ses réticences et ses arguments, le médecin ayant plutôt la mission de faciliter la scolarisation.

Daltonisme et BTS AB ?

## 4. Précautions particulières pour femmes enceintes ?

Les personnels féminins doivent s'informer des risques spécifiques liés à la grossesse auprès du médecin scolaire ou de prévention.

Il faut inciter les femmes enceintes (élève ou personnel) à déclarer leur état au médecin (scolaire ou de prévention) et réfléchir afin d'établir une liste de recommandations minimales et une adaptation des TP à risques, en particulier pour le choix des souches microbiennes

## 5. Cas particulier des élèves mineurs

Le code du Travail (article R234-11 à 234-23) fixe la nécessité de demander une dérogation pour la manipulation de certains produits chimiques pour les élèves mineurs.

Cette dérogation est annuelle et individuelle, elle est accordée par l'Inspecteur du Travail après avis favorable du médecin scolaire avec l'autorisation formelle de l'enseignant concerné via le chef d'établissement (dont la responsabilité personnelle est engagée également ici).

Les pièces nécessaires à l'instruction du dossier :

- ❖ Listes nominatives des élèves par classe ou par groupe
- ❖ Liste des produits et matériels dangereux indispensables à la formation
- ❖ Avis d'aptitude du médecin
- ❖ Autorisation des enseignants (certifiant ainsi avoir dispensé une formation adaptée)
- ❖ Politique officielle de l'établissement en matière de prévention des risques professionnels

Remarque : dans le cas où les personnels travaillant dans un laboratoire (en particulier cas des CES) n'ont pas eu de formation initiale adaptée, il est nécessaire que l'équipe pédagogique assure cette formation.

## 2 Commission «Locaux et matériels »

### 1. Paillasse : disposition, matériaux, nettoyage et désinfection ?

Il existe 3 sources d'informations (au moins) à consulter :

- ☞ Les normes AFNOR ([www.afnor.fr](http://www.afnor.fr)) : Rien que sur le sujet (code d'entrée 71.04010), il y a 54 articles référencés, ces normes définissent par exemple les contraintes auxquelles doivent satisfaire les surfaces de travail....
- ☞ - Les documents émanant de l'inspection (plans types, recommandations diverses...)
- ☞ - Les rares ouvrages qui se sont intéressés à ces détails : Sécurité en laboratoire de Chimie et Biochimie (Picot et Grenouillet) est assez riche en indications bibliographiques. Manuel de Prévention des risques (Favelier, Lacroux...) consacre un chapitre à cette question avec schémas à l'appui et toutes les références bibliographiques nécessaires.

Si ces questions émanent de collègues d'établissements « en rénovation », leur rôle est de proposer après collaboration avec l'IPR concerné, celui des constructeurs d'aménager les locaux en conformité avec la documentation technique. Par ailleurs, il y a un peu partout des lycées fraîchement rénovés où il est possible de prendre des idées notamment il serait souhaitable de disposer d'un espace de prise de notes et de travail écrit au sein du laboratoire .

Nettoyage et Désinfection : le site consacre des pages à ces aspects ainsi que le livret des personnels.

### 2. Locaux : ventilation, climatisation, pollution spécifique ?

Il est difficile de trouver des textes de référence traitant de cette question. En milieu professionnel, il semble que la désinfection des locaux ne soit pas, à priori, une pratique qu'on utilise couramment mais ponctuellement (et rarement) dans certains cas bien précis pour lesquels elle est obligatoire. Néanmoins les dispositifs existent (\*) et leur utilisation n'est pas interdite (bien qu'à priori destinée au secteur médical). On peut toutefois faire 2 remarques :

- ☞ Dans ses modalités d'application, la désinfection aérienne par aérosol est relativement contraignante (surfaces propres, locaux confinés sans ventilation, sans présence humaine, durée, aération après utilisation...). Elle ne doit pas (et n'est pas préconisée pour) se substituer à un entretien régulier des locaux, qui devrait suffire à garantir aux utilisateurs de bonnes conditions de travail (hygiène de l'air et absence de contaminants).
- ☞ Du fait du caractère contraignant de la procédure, la décontamination aérienne, si elle est utilisée devrait, peut être, être consignée dans le

## 2 Commission «Locaux et matériels »

registre d'hygiène et sécurité de l'établissement. .

(\*) PHAGOGENE ZI de Carros- BP 128- 06513 Carros cedex

### 3. Affichages et étiquetage de produits chimiques (phrases R et S)

Art 231-54-8 du code du travail : Une signalisation de sécurité appropriée doit être mise en place dans les locaux de travail où sont utilisés des produits dangereux.

Art 231-56-3 : Les travailleurs doivent être informés...

Il semble donc que l'affichage d'un tableau des symboles et des phrases de risque et conseils de prudence réponde à cette question.

Tout réactif doit être étiqueté : Identification / concentration /symbole de danger/ Phrases R et S.

### 4. Conformité, maintenance et utilisation du gros matériel : PSM, Sorbonne, cuves à électrophorèse.

- Conformité et maintenance sont déjà des questions évoquées dans le site.

- Les modalités d'utilisation des PSM (en microbiologie) sont actuellement « expérimentales » et disparates, en fonction du nombre de postes disponibles, de leur implantation, et des choix des enseignants. Deux points de vue semblent prévaloir :

- ☞ Le travail sous PSM est réservé aux élèves déjà formés à la manipulation en zone stérile et est donc envisagé comme un complément de formation, principalement pour les étudiants de TS.
- ☞ L'apprentissage du travail sous PSM est d'emblée considéré comme nécessaire à la formation d'un microbiologiste et débute en classe de première, quel que soit le TP. Les élèves passent « sous PSM » par rotation.

Dans les 2 cas, les PSM se trouvent dans la salle de TP, et un nombre suffisant de postes est souhaitable.

~~Par ailleurs le travail de l'enseignant menant ainsi une double activité au cours de telles séances serait facilité par l'aide d'un technicien de laboratoire. (n'est pas du ressort du groupe 3RB)~~

«Habilitation» nécessaire pour les personnels utilisant des autoclaves ?:

La compétence des personnels utilisant des autoclaves doit être reconnue par le chef d'établissement.

## 2 Commission «Locaux et matériels »

### 5. Becs Bunsen ou becs Hoffman : risque lié au gaz et lié au port de gants.

Il n'y a pas de textes de l'Education Nationale déconseillant l'utilisation d'installations de poste de gaz fixe (toute installation « mobile » étant interdite), la question est du ressort du propriétaire des locaux (région) qui peut faire en fonction d'impératifs techniques (hauteur des locaux...) le choix qui lui convient. Les flexibles doivent être conformes NORMAGAZ et normalement, si le diamètre est inférieur à 12 mm, ils doivent être fixés par un collier aux arrivées. Pour ces questions il est impératif de se référer à la commission hygiène et sécurité. Il est normalement prévu que les futures normes imposent de recourir à des flexibles métalliques et précisent les caractéristiques des becs quand ils sont utilisés (copure d'arrivée de gaz en cas d'extinction de la flamme) . Compte-tenu du coût induit, il sera alors nécessaire d'obtenir des crédits régionaux pour la mise en conformité.

Il existerait un nouveau texte concernant les bec Bunsen ?

A suivre ....

Utilisation des gants et becs ? : Utilise-t-on souvent gants et becs en même temps et pour quoi faire ? :

~~Il apparaît que seule la lecture d'une galerie API pourrait le nécessiter : celle-ci peut se faire avec gants et sans bec. (la conclusion n'est absolument pas concordante avec une analyse raisonnée des risques.)~~

### 6. Matériel laboratoire : utilisation de tubes Eppendorf, bouchons, tubes ou matériel en verre à désinfecter...

Autant que possible, il convient de privilégier l'utilisation de consommables à usage unique pour toutes les manipulations de produits biologiques, en particulier en biologie afin de réduire les procédures de désinfection-nettoyage.

Dans le même esprit, il convient d'expérimenter des solutions alternatives qui puissent permettre l'abandon progressif de matériels de moins en moins utilisés en laboratoire comme la pipette pasteur ou l'anse de platine (remplacées par les pipettes de transfert et les anses à usage unique)

### 7. Matériel élève : achat et suivi du matériel personnel (anse, poires d'aspiration, propipettes, gants de ménage, lunettes de protection)

Réglementairement, pour les EPI, c'est l'établissement qui fournit ces matériels...

# 3 Commission «Produits biologiques»

## 1. Souches microbiennes : choix selon le niveau, approvisionnement, cas des souches multi-résistantes ?

En seconde, seuls les micro-organismes de classe 1 sont autorisés. Dans les autres classes, on peut utiliser toutes les souches de classe 2 à l'exception de celles interdites par la circulaire de 1973.

La traçabilité des souches est fondamentale :

- ☞ Lors de leur commande, même à un autre établissement, faire la demande par écrit (en conserver le double), signée par le responsable de souchier et le chef d'établissement.
- ☞ Lors des repiquages successifs, bien conserver la référence.
- ☞ Lors de l'utilisation, établir un cahier de suivi (à conserver au moins 5 ans) permettant de savoir quel élève a manipulé quelle souche et quel jour.

Pour les souchiers anciens avec certaines souches sans traçabilité, mieux vaudrait par mesure de sécurité commander à nouveau à un Organisme agréé ~~l'Institut Pasteur~~ la circulaire de 1973 autorise, en effet, la fourniture des souches par d'autres établissements qui sont répertoriés) les plus "dangereuses" (*Salmonella, Shigella*) afin d'avoir une trace de leur origine.

## 2. L'utilisation des souches multi-résistantes a été très discutée. ?

On peut préconiser de ne les utiliser qu'en BTS AB 2<sup>ème</sup> année après un apprentissage sérieux mais n'est-ce-pas faire se multiplier des germes qui posent beaucoup de problèmes à l'hôpital ?

*Poser la question induit une réponse positive qui n'est pas évidente. Le fait de travailler sur des souches multirésistantes en laboratoires hospitalier n'a jamais été relié à la dissémination de ces souches dans les services. En fait, elles sont inactivées et les précautions d'hygiène doivent permettre de ne pas permettre de les propager à l'extérieur du laboratoire. Ces souches ne se maintiennent à l'hôpital que du fait de la pression de sélection des antibiothérapies mises en œuvre.*

## 3. Produits pathologiques : choix selon le niveau et approvisionnement ?.

Voir la fiche de synthèse du 3RB.

Il faut respecter la même traçabilité dans l'approvisionnement que pour les souches. Pour les produits pathologiques, seuls les CHU sont habilités à fournir des échantillons.

En l'absence de convention, faire établir un "bon de commande" signé du responsable du souchier et du chef d'établissement.

Le contenu dangereux exact du produit n'étant pas connu, il faut analyser les risques avec d'autant plus de vigilance et prévoir les moyens de prévention à appliquer (PSM pour les germes à voie de contamination

### 3 Commission «Produits biologiques»

aéroportée).

~~Une alternative est de demander des culots urinaires formolés ou des frottis.~~

Question posée à l'inspection et au 3RB : Serait-il envisageable de rédiger une convention cadre sur les produits pathologiques qui faciliterait les relations avec les CHU ?

Il n'est pas sûr que nous en tirerions bénéfice en terme de possibilités d'apprentissage. Une convention déboucherait sur des conclusions beaucoup plus restrictives que l'existant ce qui pénaliserait les sections de BTS AB qui bénéficient de la fourniture de produits pathologiques sans pour autant régler le problème des autres. Dans le cas du sang, nous avons un interlocuteur bien identifié. Pour les produits pathologiques, il faut noter que les CHR sont totalement autonomes.



# 3 Commission «Produits biologiques»

## 4. Sang et dérivés : origine ?

La commission a évoqué les problèmes liés aux nouvelles conventions à établir avec les EFS :

- ☞ le coût : s'il paraît logique de participer au traitement des échantillons, certains collègues se refusent à payer (cher) des poches de sang périmées ou des tubes de sang qui, de toute façon, étaient destinés à la destruction.
- ☞ la fréquence d'approvisionnement diminue alors que les délais de conservation dans l'établissement restent très courts (48 h) (Demander l'autorisation d'aliquoter et de congeler les échantillons pour lesquels cela est envisageable en justifiant de la traçabilité),
- ☞ les disparités régionales sont très importantes.

~~L'hématologie et la sérologie en terminale sont-elles amenées à disparaître ? (n'est pas du ressort du groupe 3RB)~~

## 5. Produits biologiques animaux : risques liés aux produits bovins et non bovins ?

Pour les produits d'origine bovine, une solution serait de pouvoir les remplacer par des produits non bovins. Si cela paraît assez facile pour la SAB, cela l'est peut-être moins pour d'autres réactifs. Le problème du coût peut rapidement se poser.

Dans tous les cas il faut mener une évaluation des risques et prendre les mesures de protection nécessaires.

L'agent de la tremblante du mouton est de classe 2, contrairement aux autres agents non conventionnels qui sont de classe 3, pour la dissection de l'encéphale, il vaudrait donc mieux choisir le mouton.

La saga des gants, . . . suite : L'utilisation des gants doit être cohérente :

- ☞ A utiliser dans tous les cas lors de l'utilisation de sang humain (convention cadre).
- ☞ Si l'on met des gants, c'est que l'on a détecté, dans la manipulation, des risques de se souiller les mains avec un produit à risque. La contamination n'étant pas toujours visible à l'œil nu, il faudra désinfecter tous les objets touchés avec les gants à l'occasion de la manipulation.

## 6. Cellules commercialisées et référencées :

Lignées non continues, non humaines et non simiennes conseillées en raison de l'éloignement d'espèces.

Question non débattue

## 3 Commission «Produits biologiques»

### 7. Produits de l'environnement : voir site – ne pas garder les souches isolées.

La traçabilité reste le maître mot : carnet de demandes signées du responsable du souchier et du chef d'établissement, bordereau de suivi pour les manipulations avec les élèves.

Les prélèvements dans le milieu naturel constituent une piste de recherche pour le 3 RB.

Pour le 3RB, il est conseillé de vacciner contre la leptospirose les personnes exposées aux eaux usées.

# 4 Commission "Équipement de protection individuelle»

## 1 EPI : fourniture ?

**Fourniture obligatoire par le chef d'établissement des EPI (décret 1994) : blouse, lunettes, masques gants à usage unique.**

- ☞ Les lunettes, les gants, les masques mais aussi les blouses devraient donc être fournis par le lycée ce qui n'est pas sans poser de problèmes compte tenu du nombre de blouses nécessaires et de leur coût. Cependant si le lycée prend en charge l'achat des blouses comme il devrait le faire, les crédits risquent d'être pris sur les crédits de fonctionnement. Au cas où l'élève achète une partie du matériel qui lui est nécessaire (blouse, masque, gants...), il faut rappeler qu'il peut être aidé par le fonds social lycéen et que les foyers sociaux éducatifs peuvent intervenir pour les achats groupés.
- ☞ Le choix du matériel effectivement acheté par le lycée ou les élèves devrait être décidé en conseil d'administration. Certains collègues présents signalent que lors des conseils d'administration les débats peuvent durer plusieurs heures et les questions précises que l'on soumet à ce conseil sont des questions de spécialistes qui ne sont pas toujours très bien accueillies.
- ☞ Les blouses :
  - **une par laboratoire** (Il faudrait donc trois blouses : une pour le laboratoire de Biologie humaine, une pour le laboratoire de Microbiologie, une pour le laboratoire de Biochimie.)
  - **rangement individuel dans un local spécifique proche du laboratoire**
  - **Fréquence de lavage : une fois par mois effectué par l'établissement.**
  - **Surblouse : non**
- ☞ . Le problème des vestiaires de rangement des blouses a été évoqué avec les difficultés rencontrées dans de nombreux établissements :
  - problème de locaux non adaptés
  - problème des casiers à blouse : la priorité a été donnée dans les établissements aux casiers pour les cartables des élèves. Les casiers à blouses ne sont souvent pas une priorité pour les lycées.
- ☞ La commission hygiène et sécurité peut être impliquée dans les choix du matériel effectivement pris en charge par le Lycée. Certains collègues signalent que pour faire évoluer les dossiers qui nous concernent, il peut être utile de s'impliquer dans la commission hygiène et sécurité, au conseil d'administration...D'autres ont été contraints de faire appel aux médias pour faire évoluer un dossier concernant le mauvais état des locaux.

## 4 Commission "Équipement de protection individuelle»

### 2. Port des gants?

Réflexion systématique : analyse des risques et nécessité ou non du port des gants est indispensable

Deux gants et non un seul (problème de réflexion sur chaque geste technique (quelle main utiliser ? puis –je toucher un appareil ? avec quelle main ?)

#### Port de deux gants uniquement au moment des gestes à risques

- Manipulation de sang humain
- Manipulation de produits susceptibles de contenir des germes à transmission cutanéomuqueuse et blessure aux mains
- Manipulation de produits susceptibles de contenir des germes traversant la peau saine

L'organisation est indispensable et le matériel est prêt soit à la paillasse, soit à un poste de travail

### 2.1 En Immunologie

#### Prélèvement de sérum :

Le risque de contamination est d'ordre cutanéomuqueux, il faut donc éviter tout risque de coupure et de projections sur la peau et les muqueuses.

Le tube est donc choisi en plastique (pas de risque de coupure).

Si le volume de sérum est inférieur au 1/10 du volume du tube, les tubes pourront ne pas être bouchés et les gants ne seront pas indispensables si les prélèvements ont lieu avec des pipettes automatiques (cônes plastiques ni piquants ni coupants) avec éjecteur de cônes (pas de risque de contamination par contact possible du sérum avec la peau en touchant le cône avec les doigts pour le retirer).

Dans tous les cas, il faut envisager avec les étudiants une démarche explicative.

#### Problèmes posés :

Si la salle de préparation est loin du laboratoire, bouchage des tubes et désignation d'un élève pour ouvrir tous les tubes (geste à risques) en mettant des gants, puis les élèves travaillent sur tube ouvert sans les gants.

Le problème du matériel collectif a été évoqué. C'est le cas de la centrifugeuse par exemple. Il faut envisager de la décontaminer en fin de manipulation.

#### Agglutination sur lame :

Le risque de contamination est d'ordre cutanéomuqueux, il faut donc éviter tout risque de coupure et de projections sur la peau et les muqueuses.

Le choix du matériel et des produits et réactifs ~~se portera~~ devrait porter sur :

Un carton (non tranchant) de grande taille, à usage unique

Une petite goutte de sérum : pas de débordement

Le problème de la taille des cartons fournis a été envisagé ainsi que le problème de l'agitation qui peut engendrer des coulures. Le risque résiduel

## 4 Commission "Équipement de protection individuelle»

semble donc grand. Il faudra aussi tenir compte du niveau technique et de l'adresse des élèves concernés.

On rappelle qu'une paire de gants coûte 30 centimes et que le coût peut être inférieur à celui de l'achat de cartons de bonnes tailles.

Problèmes des aérosols lors des pipetages : un collègue signale que les dilutions en série réalisées en Immunologie avec les sérums seraient peut-être une source importante d'aérosols.

Compte tenu des risques résiduels, le port de deux gants apparaît nécessaire.

### 2.2 En Hématologie

Réalisation de frottis sanguin coloré

Il existe une convention signée entre le lycée et les établissements français du sang.

Les gants doivent être portés pour tous les gestes à risques :

- La réalisation d'un frottis
- Le dépôt du frottis sur le support de coloration
- L'élimination des déchets (papiers souillés)

On peut ensuite retirer les gants pour colorer le frottis et le transporter jusqu'au microscope.

L'inactivation microbienne réalisée par le colorant est presque certaine mais non quantifiée.

Une collègue signale que, lorsqu'elle s'est approvisionnée en lames de frottis sanguins colorés dans un hôpital, le responsable du laboratoire a exigé qu'elle signe un document certifiant que les élèves utiliseront ces lames en portant des gants. On a suggéré de proposer de coller une lamelle sur le frottis afin de ne pas être obligé de porter des gants pour toucher un frottis coloré.

### 2.3 En biochimie

Produits biologiques utilisés :

☞ ~~lait cru (pouvant éventuellement contenir des Brucella)~~ *Curieuses de telles précautions pour un lait commercialisé, provenant d'étables contrôlées et destiné à la consommation humaine. Si l'on prend des risques en le manipulant, que dire des risques encourus en le consommant.*

☞ sérum

☞ ~~urine~~

Dans tous les cas, respect des mêmes consignes qu'en sérologie, les gants ne sont pas indispensables si le travail est effectué en respectant les bonnes consignes et en expliquant aux élèves la démarche d'analyse :

☞ tube en plastique pour le sérum

☞ volume de sérum ou de lait est inférieur au 1/10 du volume du tube

☞ Aspiration réalisée avec des pipettes automatiques (cônes) avec éjecteur de cônes

## 4 Commission "Équipement de protection individuelle»

Éviter les microtubes bouchés (type Eppendorf) (risques de renversement, de projections et d'aérosols lors de l'ouverture).

Lors de l'électrophorèse des protéines sériques, les applicateurs de petite taille nécessiteront l'utilisation de gants lors du dépôt.

Rappel : les gants destinés à protéger du risque chimique peuvent être nécessaires et leur nature doit être étudiée en fonction du produit dangereux manipulé. (voir article sur le site)

### 2.4 En microbiologie :

L'utilisation des gants pose un problème à cause des risques de brûlures aggravées sur main recouverte d'un gant.

Si on considère qu'il y a des risques de présence d'agents biologiques traversant la peau saine, il faut travailler sous PSM, poste de sécurité microbiologique. On rappelle d'ailleurs que ces agents biologiques traversant la peau saine ne sont pas autorisés à la manipulation.

Cas particuliers :

- ☞ hémocultures : PSM car les gants sont indispensables
- ☞ souches multi-résistantes aux antibiotiques : PSM pour protéger de la transmission aéroportée et gants pour protéger de la transmission cutané – muqueuse. L'utilisation de ces souches est réservée aux étudiants de BTS AB en deuxième année.
- ☞ Sérotypage des salmonelles : réaction d'agglutination donc le risque de contamination est le même qu'en sérologie, cependant, les bactéries à sérotyper ont un mode de contamination orale ; le port de gants n'est donc pas nécessaire.

En cas de blessures aux mains, les gants sont indispensables, l'élève doit alors travailler sous PSM.

## 3. Port de lunettes

### Port de lunettes (strictement personnelles : hygiène)

- Nécessaire lors de fragilité oculaire (port de lentilles, conjonctivite, allergie, défaut de sécrétion lacrymale ou dessèchement de la muqueuse)
- Port de lunettes de protection conseillé en microbiologie lors de coactivité entraînant des gestes à risque décalés.

Obligatoire en cas de manipulation de produits concentrés liquides avec risque de projection et de chauffage.

### 3.1 en microbiologie :

recommandé tant qu'il y a manipulation de pipettes en verre (projection de débris de verre)

## 4 Commission "Équipement de protection individuelle»

Les pipettes Pasteur devraient à l'avenir être remplacées par des systèmes de pipetage en plastique, stériles et à usage unique et à condition de travailler assis et de limiter les déplacements, le port des lunettes ne sera pas indispensable.

A réfléchir au port systématique en raison du risque de projections en cas d'accident.

3.2 en biologie :

L'utilisation de petits volumes minimise ce risque.

3.3 en biochimie :

Les risques de projection de produits chimiques dangereux rendent obligatoire le port des lunettes lors de ces manipulations. Le port de lunettes n'est pas systématique. Il est obligatoire s'il y a un risque de projection de produits chimiques dangereux.

### 4. Risque des moisissures et bactéries filamenteuses : les spores ?

- Manipulation et stockage sous PSM obligatoire si culture en boîtes ; en l'absence de PSM, culture fortement recommandée en gélose inclinée (tubes verre, bouchons à vis).

Cela dépend de la nature de la souche manipulée. Si cette souche peut être à l'origine de pathologies chez l'homme, en particulier respiratoires,

- 1- éviter son utilisation et la remplacer par une souche moins dangereuse, sauf en BTS AB si elle figure au programme,
- 2- En l'absence de PSM, utilisation d'un masque (chez les personnes à risque allergique) en sachant que ce dispositif est un équipement de protection individuelle et ne protégera que le manipulateur (attention à bien le choisir)

## 5 Commission « Manipulations spécifiques »

### 1. Désinfection des hématimètres ?

Simplification de la technique (temps de contact du désinfectant) et organisation du travail en fonction du temps et des moyens.

### 2. Fixation à froid du GRAM ?

Fixation par alcool à froid 3 minutes

### 3. Lutage de l'état frais ?

Lutage **interdit** : risque d'aérosol et peu d'intérêt pour l'analyse microbiologique

### 4. Désinfection des paillasses ?

Utilisation préférentielle à la fin de chaque manipulation d'un détergent-désinfectant et programmer un cycle complet nettoyage – désinfection au moins une fois par semaine (sinon, nettoyage après chaque manipulation et cycle nettoyage- désinfection une fois par jour)

### 5. Désinfection du tube à hématocrite avant centrifugation ?

Désinfection du microtube avec un papier imbibé d'eau de Javel 1,2° chl, ce qui permet ensuite de reprendre sans gants le tube pour en faire la lecture.

Si, lors de l'ouverture de la centrifugeuse par le professeur, il y a constatation de la fuite de sang hors de(s) microtube(s), les élèves reprennent des gants pour prendre leur tube et il y aura alors nécessité des désinfecter abaque et centrifugeuse immédiatement après utilisation.

### Fiches sur le site

### 6. Technique de l'antibiogramme : écouvillonnage ou inondation, ensemencement sous PSM ?

Enseigner les deux techniques : inondation (utiliser des pastettes à usage unique) et écouvillonnage.

Travail sous PSM pour les souches potentiellement responsables de pathologies respiratoires. Pour les souches à contamination orofécale, penser au lavage des mains après l'opération.

### 7. Transport des produits biologiques ?

Réglementation 3 emballages (site)

### 8. Sérotypage sous PSM ?

Non



## 5 Commission « Manipulations spécifiques »

### 9. Recyclage des plaques de microtitration ?

Pas de recyclage et organisation optimale

### 10. Homogénéisation des tubes : vortexage, agitation ou retournement ?

Vortexage sous PSM pour germe à contamination aéroportée ; le reste de la manipulation s'effectue également sous PSM. Dans les autres cas, le vortexage s'effectue à la paillasse et la suite de la manipulation près du bec.

Agitation ou retournement selon le volume à homogénéiser. Dans tous les cas, attention aux bouchons (pas de bouchage coton ou cellulose)

### 11. Bouchage des tubes en biochimie ?

Petits volumes par rapport aux contenants : tubes non bouchés distribués aux élèves ou un poste de travail prévu à côté du spectrophotomètre avec la totalité du sérum (tube non bouché) et les élèves se déplacent à tour de rôle pour la manipulation.

### 12. Lecture des tests en bactériologie 2nd jour ?

Lecture de la galerie sans bec.

Pour les questions suivantes il n'y a pas eu de discussions en commissions. Les réponses sont donc des propositions du 3RB soumises à discussion.

### 13. Technique d'isolement : aérosols quand flambage ?

Isolement par quadrants sans flambage.

### 14. Analyse du protocole de biochimie : dosage des ALAT ?

Poste de travail de prélèvement du produit biologique en tube à hémolyse plastique, petit volume et pipette automatique avec éjecteur de cône (à éliminer dans un conteneur à déchets biologiques), cuves parafilmées (agitation par retournement) à éliminer dans ce même conteneur. (fiche)

### 15. Elimination des surnageants du culots urinaires ?

Elimination du surnageant dans un bac à eau de Javel avec pipettes stériles à usage unique .

### 16. Poires d'aspiration interdites pour cause d'aérosols ?

Les poires d'aspiration ne sont pas interdites même si leur usage peut s'avérer délicat lors de la mise en place de la pipette (risque de blessure) ; les tubes étant ouverts, la génération des aérosols peut entraîner des contaminations.

## 5 Commission « Manipulations spécifiques »

### 17. Recapuchonnage des unopettes ?

Le choix est laissé à l'estimation du professeur car cohabitent deux risques liés au capillaire de verre potentiellement contaminé :

- ☞ Blessure de la main avec le capillaire lors de la remise du capuchon
- ☞ Blessure ultérieure avec le capillaire non recouvert.

Dans les deux cas, préconiser une manipulation calme et une gestuelle raisonnée (mise de l'unopette à l'écart de la zone d'activité).

### 18. Désinfection interne et externe des pipettes automatiques ?

La désinfection externe des pipettes automatiques à l'aide de détergent-désinfectant se conçoit lorsque les pipettes ont été souillées accidentellement ou utilisées avec des gants (rappelons que l'utilisation d'une pipette automatique avec éjecteur de cônes ne nécessite pas l'utilisation de gants). En cas d'aspiration excessive de produits biologiques à l'intérieur, il faudra procéder à une désinfection interne et changement de filtre.

### 19. Délai d'utilisation de l'eau de Javel (et toxicité) ?

Si préparation et utilisation correcte, durée d'efficacité d'environ 3 jours pour l'eau de Javel à 1,2 degrés chlorométriques.

A la dilution utilisée, la toxicité de l'eau de Javel est peu probable.

### 20. Manipulation de produits pathologiques ?

Pour la manipulation des produits pathologiques, il n'y a pas de connaissance exacte des agents pathogènes contenus dans ces produits donc il faut réaliser une analyse des risques avec recherche du mode de contamination des germes éventuellement présents dans le type de produit en question. Rappelons que le PSM est obligatoire dans le cas des germes à contamination aéroportée et les hémocultures doivent être manipulées sous PSM car port de gant – à débattre.

### 21. Homogénéisation du contenu des cuves lors de dosage dans un sérum ?

- Parafilm correctement étiré pour un bouchage hermétique mais en évitant de déchirer ce parafilm par le bord des cuves puis élimination en sac à autoclave.
- Ou Aspiration/refoulement à la pipette automatique

# 6 Commission « Déchets »

## 1 – Prétraitement des déchets solides contaminés ?

Pour les agents de classe 1 : pas de pré traitement (ni traitement)

Par contre pour les OGM de classe 1 , un pré traitement est requis depuis avril 2000 : autoclavage nécessaire pour les déchets solides avant enlèvement et élimination en DIB (Déchets Industriels Banals).

Pour les agents de classe 2 : inactivation obligatoire (arrêté d'Août 1996) avant élimination par filière DAS (incinération).

➤ Délais entre production et traitement (7 jours pour la plupart des lycées)

Si traitement par un procédé de désinfection, le procédé doit recevoir l'agrément du CSHPF (Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France). A la date du 18 avril 2000, il y a quinze appareils validés. Une circulaire est en préparation pour que ces protocoles soient validés régulièrement (en interne). Les déchets seront ensuite éliminés en DIB, filière des déchets ménagers et assimilés. Discussion sur la fiabilité du matériel retenu, sur le temps à consacrer au traitement, sur la rentabilité (Ex : il existe un modèle *Occigerm* de 60 litres coûtant entre 160 000 et 180 000F).

Attention à la proposition du transport des déchets du lycée au site de collecte : nécessité alors d'appliquer les textes concernant le transport de matières dangereuses et multiplication inutile des risques !

## 2 - Déchets après autoclavage : pipettes Pasteur ?

Ces déchets piquants coupants produits par un laboratoire de classe 2 sont assimilés aux DAS (Déchets d'Activités de Soins), selon le décret de novembre 1997, aussi la filière est la même que celle précitée.

Ajoutons que pour ces DAS, des délais sont imposés entre le moment où le déchet est produit et le moment où il est effectivement incinéré ou désinfecté (arrêtés de septembre 1999) Les délais sont fonction des quantités produites.

- L'inactivation des pipettes Pasteur peut être réalisée par voie chimique ou thermique. Si la voie est chimique par eau de Javel, nécessité d'une préparation quotidienne et d'une immersion suffisante.
- Problème posé par l'efficacité réelle de l'eau de Javel par suite des ajouts successifs de produits biologiques et par l'eau de Javel usagée (déchet mixte théoriquement).

## 3 - Déchets contaminés après autoclavage : bouillons ?

Rappel : ce problème concerne l'ensemble des déchets liquides, surnageants de culture issus de laboratoire de confinement 2. Les pré traitements et les traitements doivent tenir compte des risques associés (chimiques puisque radioactifs interdits).

## 6 Commission « Déchets »

En l'absence de risque chimique associé :

- Traitement : inactivation par voie chimique ou thermique. Ici, le contrôle de l'efficacité de l'autoclavage est facile : il constitue donc un procédé simple et pertinent. Pour l'inactivation par l'eau de Javel, la concentration de 1,2° chlorométriques est utilisée, mais il est nécessaire d'adapter le protocole aux caractéristiques des germes et à leur concentration.
- Elimination :
  - Si le traitement est thermique, élimination à l'évier, après validation en interne du procédé de pré traitement sauf pour le sang et dérivés (DAS : convention cadre),
  - Si le pré traitement est chimique, il conviendra d'éliminer en DIS (Déchets Industriels Spécifiques)
- Débat :
  - Difficulté d'expliquer la différence de traitement entre déchets solides et liquides, l'unification serait un pré traitement puis une élimination en DAS. Il existe des fûts spéciaux pour récupérer les liquides (attention particulièrement au système d'obturation)
  - Problèmes des entreprises de collecte qui refusent les déchets liquides.

### 4 - Déchets verre ?

Se reporter à la réponse concernant les pipettes Pasteur ou "tous matériels piquants coupants destinés à l'abandon"

Remarque : pour la verrerie "recyclée", penser à la débarasser des produits chimiques réactifs avant désinfection à l'eau de Javel (eau de Javel avec l'acide dégage du chlore)

### 4bis – Elimination de cadavres d'animaux et des pièces anatomiques ?

Si les pièces ne sont pas identifiables : inactivation, puis DAS

Sinon elles vont dans un congélateur spécifique, 5 jours maximum, avant enlèvement par service de l'équarissage .

### 5 - Déchets en biochimie (utilisation de sérums animaux) ?

Se reporter à la réponse concernant les déchets liquides contaminés.

(penser à boucher avec du parafilm par exemple les cuves avant des les éliminer)

Constat : situations variables selon les lycées :

- Autoclavage puis DAS
- DAS
- Autoclavage puis DIB

## 6 Commission « Déchets »

Pour les questions suivantes il n'y a pas eu de discussions en commissions. Les réponses sont donc des propositions du 3RB soumises à discussion.

### 5 - Déchets en biochimie (utilisation de sérums animaux) ?

Se reporter à la réponse concernant les déchets liquides contaminés.  
( penser à boucher les cuves avant de les éliminer )

### 6 - Substitution de produits chimiques ?

Solvants organiques :

- ☞ Difficiles à substituer ;
- ☞ Aucun solvant n'est inoffensif (ils sont toxiques ou nocifs par inhalation et aussi par pénétration cutanée) ;
- ☞ Risques accentués par leur volatilité à la température du laboratoire ;
- ☞ Veiller à ne jamais laisser le récipient d'un solvant non hermétiquement clos.
- ☞ Veiller à ne pas les déposer à proximité d'une source de chaleur.

Attention à prévoir un stockage convenable :

- ☞ Les quantités nécessaires aux manipulations d'une semaine ( ? ) doivent être placées dans des équipements spécifiques et adaptés ( armoire à solvants ou produits chimiques ventilée ) et équipés de bac de rétention avec un matériau absorbant, vermiculite ou terre absorbante. Eviter les stockages près des issues de secours.
- ☞ Le décret de décembre 1992 impose le balisage informatif des lieux de stockage des produits dangereux.
- ☞ Ne jamais conserver de solvant très inflammable dans un réfrigérateur non sécurisé (l'étincelle du thermostat peut déclencher une explosion si la concentration du solvant organique atteint la valeur de la LIE).

Cas particuliers

- ☞ La ninhydrine : plutôt passée au pinceau sous sorbonne que pulvérisée.
- ☞ Réactif de Wijs : en effet toxique : Pas de substitution possible (?). ~~Eventuellement penser à la suppression de son utilisation par suppression de la manipulation, sauf pour les élèves de BTS Biochimie et Qualité qui retrouveront cette manipulation en milieu professionnel. Ce conseil n'est pas du ressort du groupe 3RB)~~
- ☞ Dichromate de K : prendre des précautions lors de la préparation de la solution (toxicité de la poudre mais pas du produit en solution). Ceci concerne surtout le travail du préparateur. Envisager l'achat de solutions préparées (comme pour l'acrylamide).

## 6 Commission « Déchets »

### 7 - Toxicité des produits en fonction de la dilution ?

Voir projet déchets chimiques et voir réponse à la question 12.

### 8 - Toxicité des vapeurs après autoclavage des milieux de culture?

Pour les milieux de culture contenant de l'azide, rappelons qu'il est nécessaire de prendre des précautions lors de la pesée (toxicité de la poudre). Pour l'autoclavage, une organisation adaptée des locaux est souhaitée, cf commission locaux. Il est indispensable de favoriser l'aération du local et de ne pas rester dans le local à l'ouverture de l'appareil..

### 9 - Liste des produits à ne pas jeter à l'évier ?

(Voir projet déchets chimiques).

Il faut inverser la question et la réponse : aucun produit chimique n'est à jeter à l'évier !

### 10 - Déchets chimiques : Prise en charge financière ?

Reprendre le bilan des réponses des correspondants présentées dans le fascicule.

Se rappeler le 1er principe d'une bonne gestion des déchets : en produire le moins possible (Colorants : pour indication, il est proposé de les utiliser en borrel afin de réduire les quantités utilisées ). Quand le déchet est produit, il faut en réduire le volume ( ex : absorption du BET en solution sur du charbon activé ).

Les régions ne sont pas équipées des mêmes infrastructures, aussi le coût de traitement est-il différent. Il est nécessaire de s'adresser aux services du rectorat.

### 11 – Déchets chimiques : Tri et Elimination ?

Voir projet déchets chimiques.

Le protocole de tri, les conditions de stockage sont définis en concertation avec l'entreprise d'enlèvement.

En général on distingue les déchets chimiques solides et verrerie souillée, les liquides organiques ( halogénés, non halogénés ) les substances toxiques, cancérogènes, mutagènes, les bases, les acides, les explosifs, les déchets mercuriels.

Faire le bilan des réponses des correspondants présentées dans le fascicule.

La durée recommandée de stockage de ces déchets est de 3 mois ( ?). On ne devrait jamais dépasser l'année. Certains collecteurs prévoient une collecte dès le remplissage des récipients en particulier pour les solvants.

## 6 Commission « Déchets »

### 12 - Mélange de produits chimiques" minéral et organique" éléments pris en compte au moment du tri ?

Se référer aux réponses faites aux questions précédentes.

Dans le cas de la collecte de produits dans le même récipient il faut tenir compte de leurs caractéristiques physico chimiques pouvant créer des incompatibilités. Il est nécessaire de disposer des tables des principaux produits incompatibles..

D'une façon générale cependant, avec des solutions diluées au moins de 1/100°, les risques de réaction incontrôlées sont limités.

### 13 - Emanation toxique autour des cuves du minéralisateur ?

Essayer les minéralisateurs électriques ; manipuler sous sorbonne et aérer si nécessaire.

### 14 - Déchets mixtes ?

Il faut d'abord supprimer le risque biologique puis les traiter comme des déchets chimiques.

Voir projet déchets chimiques.