

Laboratoires d'anatomie et de cytologie pathologiques

L'Institut national de recherche et de sécurité (INRS)

Dans le domaine de la prévention des risques professionnels, l'INRS est un organisme scientifique et technique qui travaille, au plan institutionnel, avec la CNAMTS, les Carsat, Cram, CGSS et plus ponctuellement pour les services de l'État ainsi que pour tout autre organisme s'occupant de prévention des risques professionnels.

Il développe un ensemble de savoir-faire pluridisciplinaires qu'il met à la disposition de tous ceux qui, en entreprise, sont chargés de la prévention : chef d'entreprise, médecin du travail, CHSCT, salariés.

Face à la complexité des problèmes, l'Institut dispose de compétences scientifiques, techniques et médicales couvrant une très grande variété de disciplines, toutes au service de la maîtrise des risques professionnels.

Ainsi, l'INRS élabore et diffuse des documents intéressant l'hygiène et la sécurité du travail : publications (périodiques ou non), affiches, audiovisuels, multimédias, site Internet... Les publications de l'INRS sont distribuées par les Carsat.

Pour les obtenir, adressez-vous au service Prévention de la caisse régionale ou de la caisse générale de votre circonscription, dont l'adresse est mentionnée en fin de brochure.

L'INRS est une association sans but lucratif (loi 1901) constituée sous l'égide de la CNAMTS et soumise au contrôle financier de l'État. Géré par un conseil d'administration constitué à parité d'un collègue représentant les employeurs et d'un collègue représentant les salariés, il est présidé alternativement par un représentant de chacun des deux collèges. Son financement est assuré en quasi-totalité par le Fonds national de prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles.

Les caisses d'assurance retraite et de la santé au travail (Carsat), les caisses régionales d'assurance maladie (Cram) et caisses générales de sécurité sociale (CGSS)

Les caisses d'assurance retraite et de la santé au travail, les caisses régionales d'assurance maladie et les caisses générales de sécurité sociale disposent, pour participer à la diminution des risques professionnels dans leur région, d'un service Prévention composé d'ingénieurs-conseils et de contrôleurs de sécurité. Spécifiquement formés aux disciplines de la prévention des risques professionnels et s'appuyant sur l'expérience quotidienne de l'entreprise, ils sont en mesure de conseiller et, sous certaines conditions, de soutenir les acteurs de l'entreprise (direction, médecin du travail, CHSCT, etc.) dans la mise en œuvre des démarches et outils de prévention les mieux adaptés à chaque situation. Ils assurent la mise à disposition de tous les documents édités par l'INRS.

Toute représentation ou reproduction intégrale ou partielle faite sans le consentement de l'INRS, de l'auteur ou de ses ayants droit ou ayants cause, est illicite. Il en est de même pour la traduction, l'adaptation ou la transformation, l'arrangement ou la reproduction, par un art ou un procédé quelconque (article L. 122-4 du code de la propriété intellectuelle). La violation des droits d'auteur constitue une contrefaçon punie d'un emprisonnement de trois ans et d'une amende de 300 000 euros (article L. 335-2 et suivants du code de la propriété intellectuelle).

Laboratoires d'anatomie et de cytologie pathologiques

Ce document a été établi par un groupe de travail constitué sous l'égide de la CNAMTS et comprenant des spécialistes en ventilation et nuisances chimiques des Carsat, de la Cramif et de l'INRS :

- Annabelle Guilleux (INRS, pilote du groupe)
- Didier Aoustin (Centre interrégional de mesures physiques de l'Ouest, Carsat Bretagne)
- Yves Caromel (Centre interrégional de mesures physiques de l'Est, Carsat Nord-Est)
- Alain Deleau (Centre interrégional de mesures physiques, Carsat Languedoc-Roussillon)
- Martine Gillet (Laboratoire interrégional de chimie, Carsat Nord-Picardie)
- Éric Lainet (Centre de mesures physiques, Cramif)
- Claude Mialon (Centre interrégional de mesures physiques Auvergne, Carsat Auvergne)
- Roland Nieri (Laboratoire interrégional de chimie, Carsat Sud-Est)
- Alexandre San Marti (Centre interrégional de mesures physiques Auvergne, Carsat Auvergne)
- Daniel Vallet (Laboratoire interrégional de chimie, Carsat Rhône-Alpes)
- Thierry Vilmont (Centre interrégional de mesures physiques, Carsat Centre-Ouest)

Le groupe de travail remercie l'Association française d'assurance qualité en anatomie et cytologie pathologiques (AFAQAP), le Syndicat des médecins pathologistes français (SMPF), le Conseil national des pathologistes (CNPath), l'ACP Francophone, le Dr Alain Gaulier, le Dr Isabelle Goubin-Versini, le Dr Stéphane Kirchner, le Dr Florence Nodari, le Dr Maud Ounnoughene, M^{me} Ghislaine Poré, M. Christophe Bon (Cramif), M. Emmanuel Marteau (Cramif), M. Joël Rebuffaud (Carsat Normandie), M^{me} Christine David (INRS), le Dr Michel Falcy (INRS) et M^{me} Annabel Maison (INRS) pour le partage de leur expérience professionnelle et leur relecture attentive de ce document.

Sommaire

1. Description de l'activité d'un laboratoire d'ACP	7
1.1. Les postes fonctionnels	8
1.2. Identification des expositions aux produits chimiques	8
2. Les risques associés à l'utilisation des produits chimiques	14
2.1. Le risque toxicologique	14
2.2. Les risques d'incendie et d'explosion	16
2.3. Les risques liés à l'utilisation de liquides cryogéniques	17
3. Démarche de prévention	17
3.1. Substitution	17
3.2. Mesures organisationnelles	17
3.3. Principes de ventilation	19
3.4. Préconisations de ventilation par poste	23
3.5. Règles d'usage et contrôle des installations de ventilation	29
Synthèse des recommandations	30
Lexique	31
Bibliographie	32
Dossiers techniques	33

Introduction

Ce guide s'adresse aux responsables et au personnel de laboratoire⁽¹⁾, aux architectes, aux préventeurs et à toute personne impliquée dans la conception ou la rénovation d'un laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologiques (ACP).

Dans le milieu de la santé, le risque biologique focalise, en général, toute l'attention des intervenants et motive la prise de mesures de prévention [1]. Pourtant de nombreux produits chimiques dangereux sont couramment manipulés dans ce secteur d'activité. Ce guide s'attache donc à la prévention du risque chimique en laboratoire d'ACP, en particulier par la mise en œuvre d'installations de ventilation adaptées.

Le formaldéhyde, largement utilisé comme produit de conservation (fixateur) des pièces anatomiques, est la substance chimique à laquelle le personnel d'un laboratoire d'ACP est potentiellement le plus exposé. D'autres substances sont également préoccupantes : il s'agit en particulier des solvants aromatiques, employés lors des opérations d'inclusion des pièces anatomiques et de montage des lames, des colorants et produits connexes de cytologie* et d'immunohistochimie*, ainsi que des fixateurs non formolés. Les recommandations formulées dans ces pages prennent donc en compte, outre le formaldéhyde, les substances chimiques les plus fréquemment rencontrées dans les laboratoires d'ACP.

Dans un premier temps, les étapes de traitement les plus usuelles des prélèvements cytologiques* ou tissulaires* sont expliquées afin d'appréhender le fonctionnement général d'un laboratoire d'ACP et d'identifier les opérations exposantes. La nature des dangers d'origine chimique est ensuite rappelée. Cet état des lieux aboutit à une série de recommandations relatives à la conception de la ventilation des différents postes de travail.

En annexe sont présentées des réalisations concrètes sous forme de dossiers techniques.

Note

Les risques associés et les mesures de prévention à mettre en œuvre lors des analyses de biologie moléculaire ne sont pas traités dans le présent document, car ceux-ci ne sont pas spécifiques à l'anatomie et la cytologie pathologiques et ont déjà fait l'objet de plusieurs publications [1] [2].

Ce guide pratique de ventilation sera réexaminé régulièrement et au besoin modifié. Les commentaires sont à adresser à l'INRS en faisant référence au groupe de ventilation n° 22.

Les mots avec * sont expliqués dans le lexique à la fin de la brochure.

(1) Le terme « laboratoire » désigne toutes les structures dédiées à l'anatomie et la cytologie pathologiques, aussi bien les laboratoires hospitaliers que les cabinets libéraux.

1. Description de l'activité d'un laboratoire d'ACP

Les laboratoires d'ACP reçoivent et analysent des organes ou fragments d'organes, y compris des os, des prélèvements liquides, des frottis ou encore des écouvillons, afin d'identifier des lésions pathologiques et d'établir un diagnostic. Les laboratoires d'ACP jouent donc un rôle important dans le dépistage et le traitement des maladies : mis à part le diagnostic des leucémies, l'ACP gère la totalité des diagnostics des tumeurs bénignes et malignes.

Au laboratoire, les prélèvements tissulaires* fixés, qui ont fait l'objet d'un traitement conservateur, sont tout d'abord observés à l'œil nu (examen macroscopique). Ils sont disséqués afin d'identifier les lésions typiques d'une maladie et d'effectuer un échantillonnage représentatif. Après déshydratation et inclusion en paraffine, les échantillons obtenus sont découpés en lamelles très fines (coupes), qui sont colorées de manière à mettre en évidence des structures cellulaires particulières lors de leur observation microscopique.

Les prélèvements cytologiques reçus sous forme liquide sont observés à l'œil nu avant leur concentration (par filtration ou cyto centrifugation*), leur étalement sur lame, puis leur coloration pour observation au microscope.

Les prélèvements cytologiques reçus sur lame (étalements de prélèvements, appositions de tissus...) sont, quant à eux, directement colorés pour observation microscopique.

Ces examens « visuels » peuvent être complétés par des analyses histo-chimiques*, immunohisto-chimiques ou de biologie moléculaire.

De plus, les laboratoires peuvent effectuer des examens extemporanés. Il s'agit d'examens anatomo-pathologiques* rapides pratiqués à l'état frais sur coupes pendant une intervention chirurgicale et dont les résultats immédiats permettent d'orienter les suites de cette intervention.

À titre d'exemple, la *figure 1* illustre

ENCADRÉ 1

Cadre réglementaire dans les laboratoires d'ACP

L'activité d'un laboratoire d'ACP est encadrée par des réglementations différentes selon l'objectif recherché :

- règles issues du code du travail pour garantir la santé et de la sécurité des travailleurs, portant notamment sur la conception et l'aménagement des locaux, la sécurité des installations et matériels, la prévention des risques chimiques et biologiques ;
- dispositions issues du code de la santé publique pour protéger la santé de l'ensemble de la population, imposant en particulier les bonnes pratiques en anatomie et cytologie pathologiques ;
- dispositions du code de l'environnement pour éviter de porter atteinte à l'environnement ;
- règlement de protection contre l'incendie dans les établissements recevant du public (ERP), afin de protéger le public accueilli par le laboratoire lorsque celui-ci est situé dans un centre hospitalier ou accueille des patients. Il y est tenu compte notamment du nombre de visiteurs reçus et des volumes de produits dangereux stockés.

les cheminements possibles d'une pièce anatomique ou d'un frottis reçu sur lame au sein d'un laboratoire d'ACP. Cette représentation met en évidence la proportion importante des postes de travail exposant à des produits chimiques dangereux.

1.1. Les postes fonctionnels

En raison de la diversité des pratiques et de l'évolution des techniques, l'inventaire proposé ci-après ne peut être exhaustif. Seules les tâches rencontrées le plus couramment ont été retenues.

Les étapes successives les plus usuelles du traitement des prélèvements (tissulaires – pièces anatomiques – ou cytologiques) dans un laboratoire d'ACP sont :

- la réception des prélèvements fixés ou frais, lors de laquelle ils sont triés et enregistrés ;
- la concentration et l'étalement sur lame de verre des prélèvements cytologiques (ou éventuellement la fixation du culot de centrifugation et son inclusion en paraffine pour traitement similaire à celui des prélèvements tissulaires) ;
- la fixation des prélèvements, consistant à les immerger dans un récipient contenant une solution de conservation ;
- l'analyse macroscopique, lors de

laquelle le pathologiste décrit le prélèvement tissulaire (incluant pesée, découpe, photographie...) et prélève des échantillons représentatifs de la lésion (tumeur...) observée ;

– l'inclusion des échantillons disposés dans des cassettes, pendant laquelle ils sont déshydratés puis imprégnés et enrobés de paraffine, afin de former des blocs ;

– la coupe des blocs en lamelles de quelques microns, qui sont ensuite étalées sur des lames porte-objets ;

– la coloration des lames, qui permet de mettre en évidence les structures cellulaires – lors de cette opération les échantillons sont « déparaffinés », réhydratés, immergés dans différents bains colorants, puis à nouveau déshydratés ;

– l'immunomarquage*, parfois réalisé en complément de la coloration, il s'agit d'une mise en évidence d'antigènes tissulaires au moyen d'anticorps marqués à l'aide de composés permettant d'identifier facilement leur présence ;

– le montage des lames, lors duquel une lamelle couvre-objet ou un film est collé sur la lame, afin de protéger les coupes ou étalements ;

– la lecture des lames, qui consiste à effectuer une observation sous microscope.

À ces étapes il faut ajouter des activités « supports » :

– la préparation des produits fixateurs ou éventuellement des récipients destinés à contenir les prélèvements ;

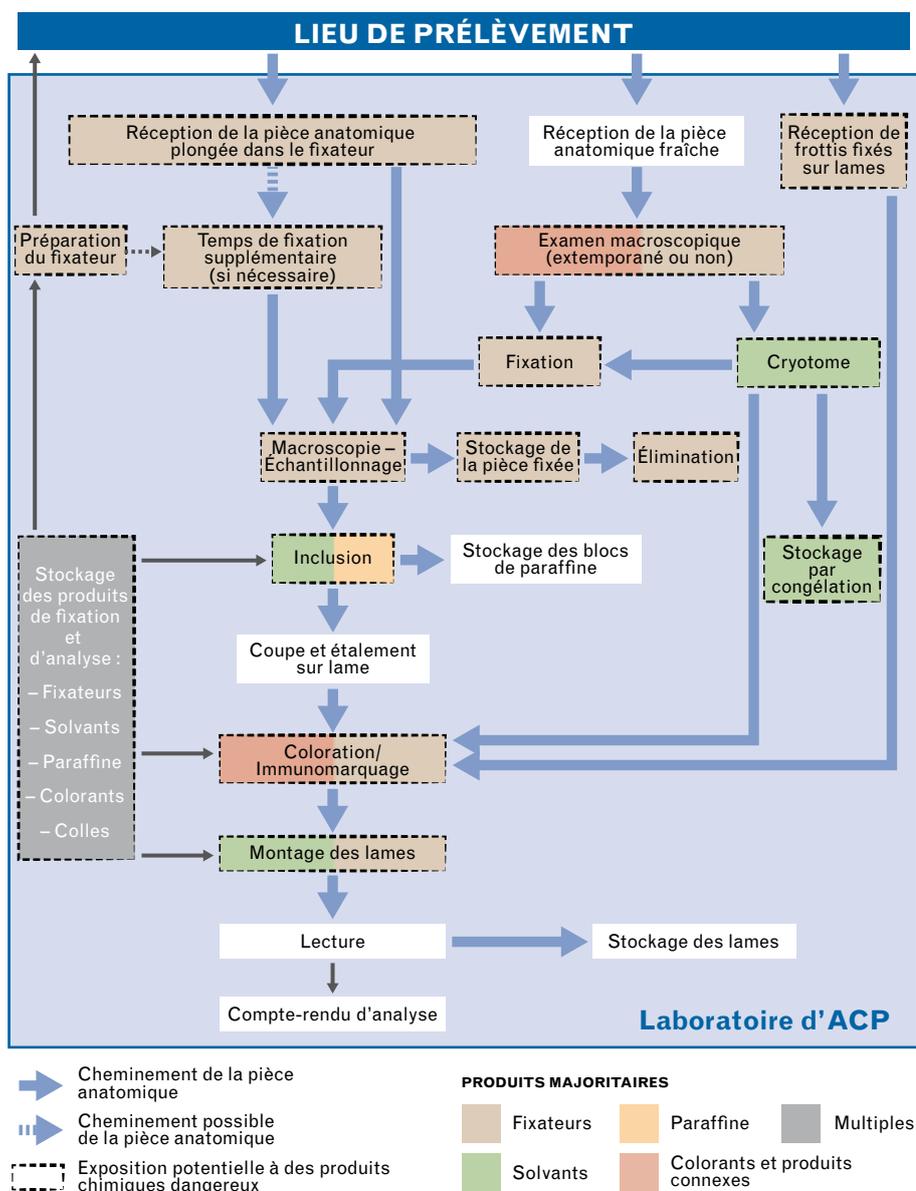


Figure 1. Exemple de cheminement d'un prélèvement au sein d'un laboratoire d'ACP

- le stockage des pièces fixées avec éventuel reconditionnement (jusqu'à plusieurs semaines, aucune durée d'archivage réglementaire n'a été fixée) ;
- le stockage des blocs de paraffine et des lames (au moins 10 ans [3]) ;
- l'élimination des prélèvements, pouvant intégrer la vidange et le nettoyage des récipients ;
- le stockage des produits chimiques du laboratoire.

L'examen extemporané* constitue une activité à part. Il est réalisé en cours d'intervention chirurgicale, soit

dans le voisinage immédiat du bloc opératoire (sur site), soit au laboratoire d'ACP (hors site) et comporte une macroscopie sur le prélèvement sans fixation préalable. Les échantillons extraits lors de la macroscopie peuvent être congelés pour permettre leur découpe en fines lamelles, puis ces coupes sont colorées pour faciliter leur observation sous microscope. Cet examen rapide permet d'établir ou de confirmer un diagnostic, de définir les limites de l'ablation, etc. Il doit toujours être suivi d'une analyse anatomo-cytopathologique approfondie, le

prélèvement est donc ensuite fixé en vue d'une analyse ultérieure.

Note

Certains laboratoires peuvent pratiquer des examens sur prélèvements frais (non fixés), sans qu'il s'agisse d'examens extemporanés.

1.2. Identification des expositions aux produits chimiques

Préparation du fixateur et remplissage des récipients destinés à recevoir les prélèvements



Il existe différents types de fixateurs, les plus courants à base de formaldéhyde, sont rappelés dans le *tableau I*, de « nouveaux » fixateurs sans formaldéhyde sont également utilisés (*tableau II*). Le fixateur peut être préparé au laboratoire, acheté en solution prête à l'emploi ou, dans l'idéal, acheté directement en récipients de fixation préremplis.

La préparation du fixateur consiste dans la plupart des cas en une dilution dans l'eau, certaines analyses nécessitent néanmoins la préparation de mélanges spécifiques. Il s'agit d'un poste très exposant : lors de la préparation, un contact cutané, à la suite d'une projection par exemple, ou respiratoire, de par la volatilité de certaines substances ou la formation d'aérosols, peut avoir lieu.

En plus des récipients préremplis, le préparateur doit parfois également mettre à disposition du médecin préleveur des bidons de fixateur. Les volumes de fixateur manipulés peuvent donc atteindre plusieurs dizaines de litres par jour, suivant les dimensions des pièces anatomiques traitées au laboratoire : il faut en effet compter au minimum un volume double de fixateur par rapport au volume de la pièce anatomique (par exemple : 20 cm³ de fixateur pour une biopsie cutanée de 0,5 cm³, 2 à 3 litres de fixateur ou plus

Risques associés à la manipulation des produits chimiques et des prélèvements

Risques	Exemples
 Intoxication mortelle ou lésion cellulaire pouvant induire une pathologie grave (cancer)	Risque d'inhalation de formaldéhyde (cancérogène) Risque de contact avec l'oxyde de mercure (toxique)
 Incendie	Risque d'inflammation de solutions concentrées de formaldéhyde Risque d'inflammation d'éthanol
 Brûlure chimique	Risque de contact avec de l'acide chlorhydrique Risque de contact avec de l'ammoniaque
 Intoxication	Risque d'inhalation de xylène Risque d'ingestion par contact avec des objets contaminés à l'hématoxyline
 Gelure (brûlure cryogénique)	Risque de contact avec l'azote liquide
 Asphyxie	Risque d'asphyxie suite à l'évaporation d'azote liquide
 Risque biologique	Risque d'inhalation de bioaérosols formés lors de la manipulation d'un prélèvement pulmonaire ou de la coupe d'un os

pour une mastectomie de 1 000 cm³). La consommation moyenne de solution fixatrice s'élève cependant généralement à une centaine de millilitres par examen.

Réception des prélèvements



Un contact avec les produits fixateurs ou des agents biologiques pathogènes (si des prélèvements frais sont examinés) [1] est possible dès la réception de la pièce anatomique.

Le réceptionniste peut se trouver occasionnellement en contact cutané avec le fixateur ou des agents biologiques pathogènes, si le récipient contenant la pièce ou le document d'accompagnement sont souillés (étanchéité défectueuse du récipient). Des vapeurs de fixateurs peuvent également se dégager et exposer la personne par voie respiratoire.

TABLEAU I

FIXATEURS COURANTS [4, 23]

Nom usuel du fixateur	Composition indicative
Formol neutre	Formaldéhyde (3,8 %) Méthanol (1 %) Carbonate de calcium (1 %) ou mélange d'hydrogéoorthophosphate de disodium et de dihydrogéoorthophosphate de sodium Eau distillée (> 90 %)
A.F.A. (Alcool-Formol-Acide acétique)	Formaldéhyde (0,8 %) Méthanol (0,2 %) Acide acétique (5 %) Éthanol (75 %) Eau distillée (19 %)
Liquide de Bouin Hollande	Formaldéhyde (3,2 %) Méthanol (0,8 %) Acide picrique [2,4,6-trinitrophénol] (3,4 %) Acide acétique (1,3 %) Diacétate de cuivre (2,1 %) Eau distillée (89,2 %)

TABLEAU II

« NOUVEAUX » FIXATEURS [3]

Nom commercial du fixateur	Composition indicative
ExCell Plus™	Glyoxal (< 25 %) Éthanol (< 10 %) Éthylène-glycol (< 10 %) Eau distillée (> 55 %)
Glyo-Fixx RTU®	Éthanol (10-20 %) Glyoxal (< 5 %) Méthanol (< 2 %) Isopropanol (< 2 %) Eau distillée (> 70 %)
HOPE® Fixative System	Acide glutamique Acétone
RCL2®	Acide acétique (18 %) Autres composants non soumis à déclaration Eau distillée

Remarque : Les éléments rassemblés dans ce tableau sont issus des fiches de données de sécurité et ne donnent pas la composition complète des produits.

Fixation des prélèvements frais



La fixation peut durer de quelques heures à plusieurs jours suivant la taille du prélèvement et le produit utilisé. C'est pourquoi, bien qu'elle ait déjà été placée dans la solution fixatrice sur le lieu de prélèvement, une pièce opératoire peut nécessiter un temps de fixation complémentaire au laboratoire.

Pour des pièces volumineuses, la quantité de fixateur mise en œuvre peut s'élever à plusieurs litres. Dans ce cas, la pièce anatomique doit être de nouveau entaillée puis replacée dans la solution fixatrice, afin de faciliter la pénétration du fixateur dans les tissus. Lors de ces opérations, le pathologiste ou le technicien peuvent être exposés à des projections ou des aérosols de fixateurs ou de liquides biologiques ainsi qu'à des vapeurs de fixateurs, tout comme lors de la macroscopie (voir paragraphe suivant).

Analyse macroscopique et prélèvement d'échantillons



Lors de l'analyse macroscopique, la pièce anatomique imprégnée de fixateur est décrite ; à cette fin, elle est pesée, disséquée et éventuellement photographiée. Le médecin pathologiste prélève de petits échantillons représentatifs de la pièce, qui sont placés dans des cassettes adaptées en vue de leur inclusion. Cet examen est souvent réalisé en binôme par un médecin qui décrit et dissèque la pièce et un technicien qui note les observations et met à disposition les cassettes d'échantillonnage.

La macroscopie implique une manipulation prolongée de la pièce anatomique. Le pathologiste penché sur la pièce peut être particulièrement exposé aux vapeurs et aux projections de fixateur. Par ailleurs, à la suite d'un accident de coupe ses gants peuvent être abîmés et exposer la peau. Enfin, le percement de poches de liquides de

pièces mal fixées à cœur peut provoquer l'aérosolisation d'agents biologiques pathogènes [1] et y exposer les opérateurs par inhalation.

Examen de prélèvements frais (extemporané ou non)



Lors de cet examen, le manipulateur peut être exposé par voie cutanée à des agents biologiques pathogènes [1] portés par la pièce anatomique.

Certains prélèvements peuvent en outre comporter des poches de liquides ; si celles-ci sont percées lors de l'examen macroscopique, des aérosols d'agents biologiques pathogènes

peuvent se former et être inhalées par le personnel.

Par ailleurs, le pathologiste et ses assistants ont recours, à des fins de diagnostic, à différents produits chimiques. Avant tout, ils peuvent être exposés par inhalation et par contact direct aux fluides cryogéniques : azote liquide ou isopentane ou aux solvants utilisés pour améliorer la conservation des tissus, tels que le diméthylsulfoxyde (DMSO). Ensuite, un contact cutané avec les produits de coloration, mis en œuvre afin de révéler les structures tissulaires et cellulaires, est possible. Les solutions de colorations sont également susceptibles d'émettre des vapeurs de substances chimiques, qui

TABLEAU III

EXEMPLES DE COLORATIONS POUR EXAMEN EXTEMPORANÉ [4]

Nom de la coloration	Bains de trempage mis en œuvre
Bleu de toluidine	<p>Bleu de toluidine</p> <p>Bleu de toluidine (1,2 %)</p> <p>Méthanol (5,4 %)</p> <p>Eau distillée (93,4 %)</p> <p>Eau acétifiée</p> <p>Acide acétique (< 1 %)</p> <p>Eau distillée (> 99 %)</p>
Bleu de toluidine phéniqué	<p>Bleu de toluidine phéniqué</p> <p>Bleu de toluidine (0,7 %)</p> <p>Éthanol (7,7 %)</p> <p>Phénol (3 %)</p> <p>Eau distillée (88,6 %)</p> <p>Eau acétifiée</p> <p>Acide acétique (< 1 %)</p> <p>Eau distillée (> 99 %)</p>
Hématoxyline-Éosine	<p>Alcool à 95°</p> <p>Ethanol (ca. 93 %)</p> <p>Eau distillée (ca. 7 %)</p> <p>Hématoxyline de Harris</p> <p>Hématoxyline (0,5 %)</p> <p>Éthanol (0,2 %)</p> <p>Alun de potassium (9,0 %)</p> <p>Monoxyde de mercure (0,2 %)</p> <p>Eau distillée (90,1 %)</p> <p>Éosine</p> <p>Éosine B (1 %)</p> <p>Eau distillée (99 %)</p> <p>Alcool à 95°</p> <p>Éthanol (ca. 93 %)</p> <p>Eau distillée (ca. 7 %)</p> <p>Alcool à 100°</p> <p>Éthanol (100 %)</p> <p>Xylène</p>

peuvent alors être inhalés. Le *tableau III* présente quelques colorations effectuées sur des prélèvements frais. Enfin, en raison de sa fiabilité moindre, l'examen extemporané est toujours suivi d'une analyse anatomo-cytopathologique approfondie, le prélèvement analysé en extemporané est donc placé dans une solution fixatrice : les opérateurs sont par conséquent aussi soumis aux risques d'exposition décrits pour un examen anatomo-cytopathologique sur pièce fixée.

Décalcification



Si un prélèvement est calcifié (os, cartilages), il doit subir une décalcification avant la coupe au microtome. Cette décalcification est réalisée dans un bain acide, sur plusieurs heures, voire plusieurs jours, elle peut être accélérée par l'utilisation d'une méthode électrolytique. Pendant cette phase de décalcification, la pièce est contrôlée et rincée à l'eau distillée régulièrement. Lors de la préparation de la décalcification et à chacune de ses interventions, l'opérateur peut être exposé par voie cutanée à des projections de solutions de décalcification et par voie respiratoire à des vapeurs de substances chimiques volatiles. Le *ta-*

TABLEAU IV

EXEMPLES DE SOLUTIONS DÉCALCIFIANTES [4]	
Nom	Composition indicative
Solution n° 1	Acide nitrique (10 %) Eau distillée (90 %)
Solution n° 2	Acide nitrique (30 %) Eau distillée (70 %)
Solution n° 3	Acide formique (8 %) Acide chlorhydrique (3 %) Eau distillée (89 %)
Solution n° 4	Acide acétique (> 5 % et < 10 %) Eau distillée (> 90 %)
Solution n° 5	Acide acétique (> 5 % et < 10 %) Formaldéhyde (3,8 %) Méthanol (1 %) Eau distillée (> 85 %)

bleau IV rassemble quelques exemples de solutions décalcifiantes.

Inclusion des échantillons



L'observation des structures cellulaires nécessite la réalisation de coupes régulières très fines (quelques microns). Une telle coupe n'est possible que sur un matériau rigide, c'est pourquoi les échantillons sont inclus dans un matériau qui une fois solidifié présente une faible élasticité ; dans la

plupart des cas, il s'agit de paraffine [4]. La paraffine, très hydrophobe, pénètre mal les échantillons contenant naturellement de l'eau. L'inclusion des échantillons doit donc être précédée d'une déshydratation, qui consiste à immerger les échantillons dans plusieurs bains successifs à teneur en eau décroissante, les derniers bains étant en général des bains de solvants aromatiques (*figure 2*). Pour cette opération la quantité moyenne de solvants mise en jeu est de l'ordre de 100 ml par examen.

Ensuite, l'imprégnation des échantillons avec la paraffine dure en moyenne quelques heures, elle peut cependant être prolongée jusqu'à 24 heures : pour préserver la qualité de l'échantillon, il est essentiel qu'aucun résidu de solvant ne subsiste. À l'issue de cette phase d'imprégnation, les échantillons sont placés dans des moules et recouverts de paraffine liquéfiée, des blocs sont ainsi obtenus après refroidissement de la paraffine.

Dans la plupart des laboratoires les phases de déshydratation et d'inclusion sont automatisées, le moulage des blocs est, lui, souvent réalisé manuellement. Les phases exposantes se concentrent donc à l'ouverture des automates et à la recharge des solvants : il existe alors un risque de contact cutané par projection et d'inhalation des vapeurs de solvants émises par

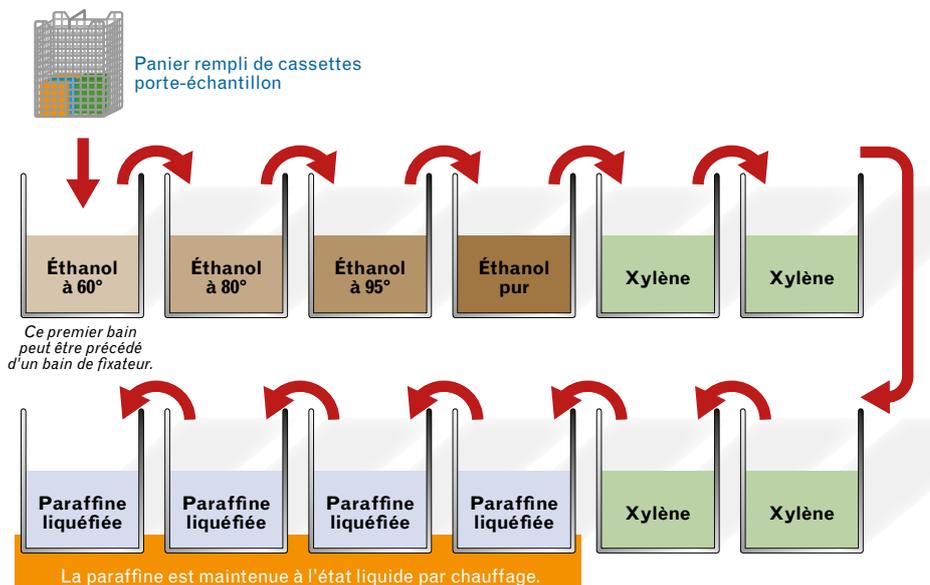


Figure 2. Exemple de processus d'inclusion

les bains et les récipients de recharge. En l'absence de captage localisé, les automates se révèlent également des sources permanentes d'émissions de vapeurs de solvants, auxquelles est alors exposé tout le personnel présent dans le local.

Coupe des blocs

Les blocs sont coupés en lamelles très fines à l'aide d'un microtome.

Plusieurs lamelles accolées à la suite les unes des autres forment un « ruban » qui est délicatement déposé sur une lame porte-objet. Suivant les conditions climatiques du local de coupe, l'opérateur peut pulvériser un aérosol de refroidissement (1,1,1,2-Tétrafluoroéthane, par exemple) sur le bloc afin de durcir la paraffine. Après étalement sur la lame porte-objet, les coupes sont séchées à l'étuve. L'éventuel refroidissement du bloc à l'aide d'un générateur

d'aérosol de fluide frigorigène constitue la seule situation d'exposition par inhalation à une substance chimique.

Coloration



Les lames obtenues sont colorées, afin de faciliter l'observation des structures cellulaires au microscope.

On distingue les colorations « de routine » des colorations « spéciales » [5].

TABLEAU V

EXEMPLES DE COLORATIONS DE ROUTINE [4, 5]

Nom de la coloration	Bains de trempage mis en oeuvre
Hématoxyline-Éosine-Safran (HES)	<p>Hématoxyline de Mayer Hématoxyline (< 0,1 %) Alun de potassium (5,5 %) Iodate de sodium (< 0,1 %) Acide citrique (< 0,1 %) Hydrate de chloral (4,5 %) Eau distillée (> 89 %)</p> <p>Éosine Éosine B (1 %) Eau distillée (99 %)</p> <p>Safran Crocine (2 %) Éthanol (98 %)</p>
May-Grünwald-GIEMSA (MGG)	<p>Solution de May-Grünwald Éosine B (< 1 %) Bleu de méthylène (< 1 %) Méthanol (> 99 %)</p> <p>Solution de GIEMSA Éosine B (< 1 %) Azur de méthylène (< 1 %) Méthanol (> 98 %)</p>
Papanicolaou	<p>Hématoxyline de Harris Hématoxyline (0,5 %) Éthanol (0,2 %) Alun de potassium (9,0 %) Monoxyde de mercure (0,2 %) Eau distillée (90,1 %)</p> <p>Acide chlorhydrique à 37 %</p> <p>Alcool ammoniacal Ammoniacal (3 %) Éthanol (67,9 %) Eau distillée (29,1 %)</p> <p>Orange G Orangé G (< 1 %) Éthanol (67,9 %) Eau distillée (> 30 %)</p> <p>Polychrome EA 50 Éosine B (< 1 %) Méthanol (25 %) Éthanol (70 %) Eau distillée (> 4 %)</p>

TABLEAU VI

EXEMPLES DE COLORATIONS SPÉCIALES [4, 5]

Nom	Bains de trempage mis en oeuvre
Bleu Alcian (BA)	<p>Solution d'acide acétique Acide acétique (3 %) Eau distillée (97 %)</p> <p>Solution de Bleu Alcian Bleu Alcian (0,1 %) Acide acétique (3 %) Eau distillée (96,9 %)</p> <p>Solution de rouge nucléaire Rouge nucléaire (0,2 %) Sulfate d'aluminium (5 %) Eau distillée (94,8 %)</p>
Gram	<p>Solution de Violet de Gentiane phéniqué Violet de Gentiane (0,15 %) Phénol (1 %) Éthanol (4 %) Eau distillée (> 94 %)</p> <p>Solution de bicarbonate de sodium Bicarbonate de sodium (5 %) Eau distillée (95 %)</p> <p>Lugol Iode (0,5 %) Iodure de potassium (1 %) Eau distillée (98,5 %)</p> <p>Mélange Alcool-Éther Éthanol (50 %) Oxyde de diéthyle (éther éthylique) (50 %)</p> <p>Solution de fuchsine basique Fuchsine (1 %) Phénol (2,8 %) Éthanol (15 %) Eau distillée (81,2 %)</p> <p>Acétone</p> <p>Solution d'acide picrique Acide picrique [2,4,6-trinitrophénol] (0,1 %) Acétone (99,9 %)</p> <p>Mélange Acétone-Xylène Acétone (50 %) Xylène (50 %)</p>

Les premières révèlent les constituants cellulaires (noyaux et cytoplasmes) et tissulaires (fibres), les secondes mettent en évidence des composants particuliers au sein des cellules (mucus, collagène...) et des agents pathogènes (bactéries, champignons, parasites). Comme pour la phase d'inclusion des échantillons, il existe des automates de coloration dans la plupart des laboratoires d'ACP, les techniques manuelles ne représentant qu'une faible proportion des colorations ; les situations exposantes sont donc dans le premier cas du même type que celles présentes lors de l'inclusion des échantillons. Si la coloration est manuelle, une exposition de l'opérateur est possible par voie cutanée en cas de projection lors de la manipulation des lames et des bains et par inhalation des vapeurs émises par les bains et les lames traitées.

Les techniques de coloration font appel à de nombreuses substances chimiques (*tableaux V et VI, figure 3*), auxquelles s'ajoutent les solvants de déparaffinage, de réhydratation, de déshydratation et de dilution. Malgré l'automatisation de ces techniques, la préparation des solutions de coloration reste une opération potentiellement très exposante tant au niveau cutané qu'au niveau respiratoire, si le laboratoire n'utilise pas de solutions colorantes prêtes à l'emploi.

Immunomarquage



L'immunomarquage consiste à rechercher et localiser des protéines indicatrices de certaines pathologies dans les tissus ou cellules prélevées. Cette technique met en jeu un anticorps spécifique de la protéine recherchée (aussi appelée antigène) ainsi qu'un système de révélation de la réaction anticorps-antigène (*figure 4*) permettant de localiser les antigènes par observation microscopique du prélèvement. Le système de révélation peut être simplement une molécule colorée ou fluorescente ou une particule

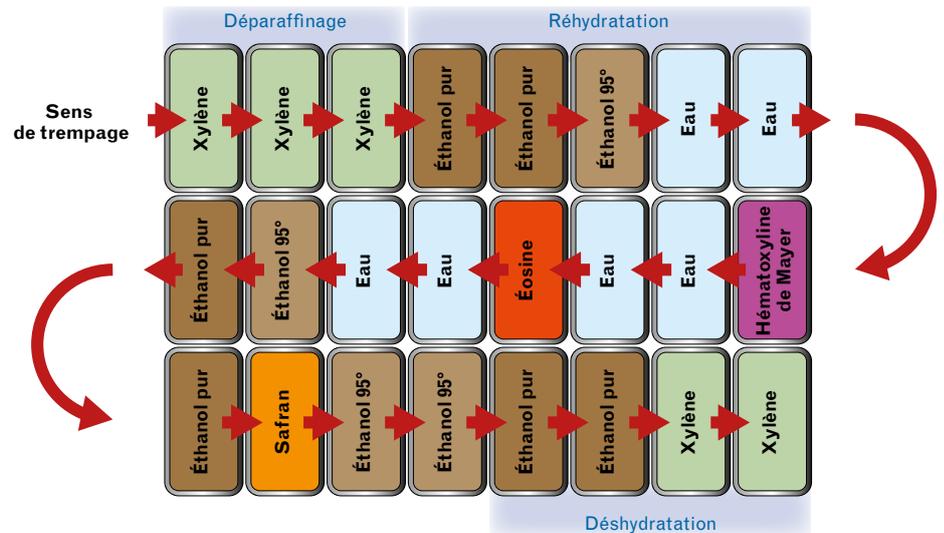


Figure 3. Vue simplifiée de la batterie d'un automate de coloration (coloration HES) [5]

métallique liée à l'anticorps, il peut s'agir aussi d'une suite de réactions chimiques impliquant, par exemple, des anticorps secondaires et des enzymes. Suivant la nature du système de révélation, différentes techniques d'observation sont employées : microscopie optique, en fluorescence ou électronique.

En pratique, l'immunomarquage se déroule comme une coloration, seuls les réactifs mis en œuvre changent. Les expositions sont donc de même type que celles observées lors de l'inclusion et de la coloration.

Montage des lames



Afin de préserver la coupe (et la coloration ou l'immunomarquage), une lamelle couvre-objet ou un film transparent est fixé sur l'échantillon porté par la lame à l'aide d'une résine synthétique. En raison de leurs bonnes propriétés optiques, les résines les plus utilisées sont des polyméthacrylates de méthyle ou des copolymères de méthacrylate de méthyle et de méthacrylate de butyle. Le produit de montage se présente sous la forme d'une

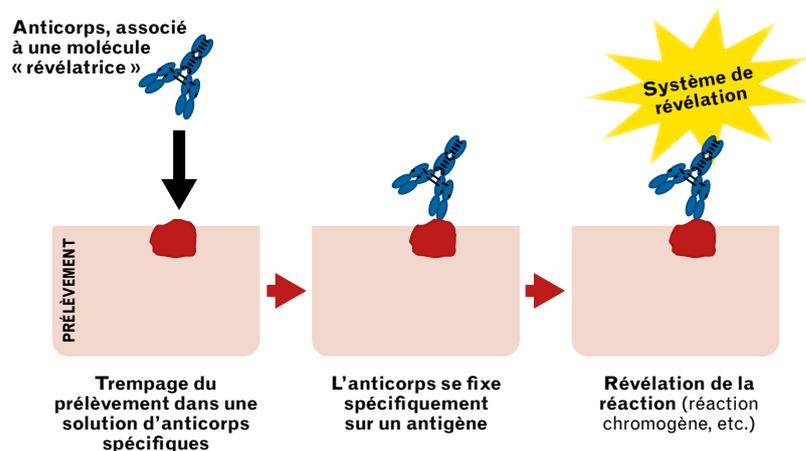


Figure 4. Principe de l'immunomarquage [5]

solution de résine en solvant (souvent le toluène ou un mélange de xylènes).

Les laboratoires disposent généralement d'un automate de montage de lame ou d'une colleuse de film associée à l'automate de coloration ou d'immunomarquage. Le montage manuel des lames est, par conséquent, une opération très occasionnelle. Dans les deux cas, les opérateurs peuvent être exposés, par voie cutanée, à des projections lors de la manipulation des résines et, par voie respiratoire, aux vapeurs de solvants lors de l'application et du séchage des résines.

Lecture des lames

Après leur montage, les lames sont observées au microscope. Les structures et les antigènes révélés par les colorations et l'immunomarquage sont consignés dans le rapport d'analyse du médecin pathologiste; si nécessaire, ce rapport peut être complété par des clichés photographiques. Pour cette observation, le pathologiste n'a recours à aucun produit chimique, excepté en microscopie optique quand le grossissement est supérieur à 100 fois : dans cette situation l'utilisation d'une huile d'immersion est souvent nécessaire, le risque d'exposition est alors principalement cutané.

Stockage des blocs de paraffine et des lames montées

Afin de compléter les analyses, si nécessaire, ou de revoir le diagnostic, les coupes montées sur lames ainsi que les blocs de paraffine contenant les échantillons anatomiques doivent être conservés par le laboratoire d'ACP (la durée de stockage est définie réglementairement : voir chapitre 1.1).

À température ambiante, ces objets ne libèrent pas de substances chimiques dangereuses.

Stockage des pièces fixées



Les pièces fixées peuvent être conservées par le laboratoire d'ACP

jusqu'à plusieurs semaines suivant les besoins de l'analyse. Bien que les pièces fixées soient peu ou pas manipulées lors de cette phase, le risque d'exposition aux produits de fixation ne doit pas être négligé (défaut d'étanchéité ou souillure des récipients).

Élimination des pièces fixées



Lorsque l'analyse est terminée, le prélèvement anatomique fixé doit être éliminé. Cette phase se révèle particulièrement exposante par contact (direct, par projection...) et par inhalation pour le personnel, lorsqu'il est procédé à une vidange des récipients.

Stockage des produits chimiques



Comme exposé dans les paragraphes précédents, le laboratoire d'ACP a recours à de nombreux réactifs et solvants pour l'analyse des prélèvements. Tout entreposage de ces produits représente une source d'exposition chimique possible.

2. Les risques associés à l'utilisation des produits chimiques

Les produits chimiques utilisés en ACP peuvent être classés dans les catégories suivantes :

- fixateurs ;
- acides ;
- bases ;
- solvants ;
- colorants ;
- réactifs d'immunohistochimie* ;
- produits d'inclusion et colles.

Tous les produits cités ne sont cependant pas forcément rencontrés dans un même laboratoire. En effet, certains laboratoires peuvent se spécialiser dans un domaine d'analyse spécifique.

2.1. Le risque toxicologique

Le risque toxicologique dans un laboratoire d'ACP résulte de deux modes d'exposition principaux : l'inhalation de substances volatiles ou d'aérosols (pour rappel, des valeurs limites d'exposition professionnelle – VLEP – ont été définies pour de nombreux agents chimiques dangereux [6], voir encadré *ci-contre*) et le contact cutanéomuqueux avec les produits utilisés. Plus les opérations du laboratoire sont automatisées, moins cette dernière voie d'exposition sera prépondérante.

Le risque d'ingestion de produits dangereux est plus limité, il sera essentiellement la conséquence de la déglutition de produits inhalés ou du port de mains souillées à la bouche.

Les fixateurs

Les solutions de **formaldéhyde** sont, de loin, les fixateurs les plus utilisés (*tableau 1 page 7*). Ces solutions sont très émissives, en effet le formaldéhyde pur est un gaz à température et pression ambiante. Le formaldéhyde [7, 8] est irritant pour la peau et très ir-

ENCADRÉ 2

Valeurs limites d'exposition professionnelle [6]

La valeur limite d'exposition professionnelle (VLEP) est la limite de la moyenne pondérée en fonction du temps de la concentration d'un composé chimique dans l'air de la zone de respiration d'un travailleur au cours d'une période de référence déterminée : huit heures (VLEP 8 heures ou VME) ou quinze minutes (VLEP 15 min ou VLEP court terme ou VLCT).

Le respect des VLEP n'implique pas l'absence de risque. En effet, la VLEP est fixée à un moment donné et peut par la suite ne plus refléter l'état des connaissances scientifiques, en perpétuelle évolution. Par ailleurs, une VLEP ne tient pas compte de l'effet synergique potentiel d'autres composés chimiques présents sur le lieu de travail. Enfin, la VLEP considère uniquement la pénétration dans l'organisme par la voie respiratoire, alors qu'en situation de travail une exposition par la voie cutanée et la voie digestive peut également avoir lieu. Par conséquent, le respect des valeurs limites d'exposition doit toujours être considéré comme un objectif minimal de prévention : il convient de réduire l'exposition à un agent chimique dangereux à un niveau aussi bas que techniquement possible.

VLEP DE SUBSTANCES CHIMIQUES RENCONTRÉES DANS LES LABORATOIRES D'ACP [6, MISE À JOUR 2012]

Nom	N° CAS	VLEP – 8 heures		VLEP – 15 min		Année de publication
		ppm	mg/m ³	ppm	mg/m ³	
Acétone	67-64-1	500	1 210	1 000	2 420	2007
Acide acétique	64-19-7	–	–	10	25	1982
Acide nitrique	7697-37-2	–	–	1	2,6	2007
Acide picrique	88-89-1	0,1	0,1	–	–	1987
Ammoniac	7664-41-7	10	7	20	14	2006
Éthanol	64-17-5	1 000	1 900	5 000	9 500	1982
Formaldéhyde	50-00-0	0,5	0,6	1	1,2	1993
Isopentane	78-78-4	1 000	3 000	–	–	2007
Méthanol	67-56-1	200	260	–	–	2007
Oxyde de diéthyle	60-29-7	100	308	200	616	2007
Phénol	108-95-2	2	7,8	4	15,6	2007
Toluène	108-88-3	20	76,8	100	384	2012
Xylènes	1330-20-7	50	221	100	442	2007

ritant pour les yeux et les muqueuses. Une exposition massive peut entraîner de graves lésions des voies respiratoires. Le formaldéhyde peut également provoquer des allergies cutanées et respiratoires (eczéma, rhinite et asthme). Par ailleurs, des études ont montré qu'une exposition répétée à de fortes doses de formaldéhyde peut entraîner l'apparition de cancers nasopharyngés. Des leucémies ont également été décrites lors d'exposition à cette substance [9]. D'un point de vue réglementaire, les activités exposant au formaldéhyde sont considérées comme cancérogènes en France.

Toutes les solutions de formaldéhyde contiennent également du **méthanol** (voir paragraphe suivant sur les solvants) utilisé en tant que stabilisant.

Le mélange fixateur à base de formaldéhyde peut également contenir des **acides** (acide acétique et acide picrique, notamment, voir paragraphe suivant sur les acides) et des **solvants** (voir paragraphe suivant), qui modulent la durée de fixation et la pénétration de la solution à l'intérieur de la pièce anatomique.

Ces dernières années ont vu l'apparition de nouveaux fixateurs (*tableau II page 9*). Des substances telles que le glyoxal, l'éthanol, l'acétone ou encore l'acide acétique (voir paragraphes suivants) entrent dans leur composition.

Le **glyoxal** se révèle mutagène dans plusieurs études *in vitro*. De plus, des études indiquent que le glyoxal pourrait promouvoir l'apparition de carcinomes

[10]. Par ailleurs, comme tous les aldéhydes, le glyoxal est fortement irritant pour la peau et les muqueuses, c'est aussi un sensibilisant cutané. Néanmoins aucune donnée concernant l'apparition de rhinite ou d'asthme en relation avec une exposition au glyoxal n'a été retrouvée dans la littérature.

Les acides et les bases

Les acides sont utilisés dans les solutions décalcifiantes (*tableau IV page 11*) et lors des colorations. Les solutions acides peuvent être formolées (additionnées d'une solution de formaldéhyde stabilisée par le méthanol).

Ces acides ont en commun un fort pouvoir corrosif, qui en cas de contact peut provoquer des lésions très sévères,

notamment au niveau des yeux. Certains peuvent se révéler, en outre :

- toxiques (**acide picrique** [11], **phénol** [12]) ;
- mutagènes (**phénol** [12]) ;
- sensibilisants (**acide picrique** [11]).

Les bases interviennent essentiellement lors des colorations. Les plus courantes sont l'**ammoniaque** [13] et les solutions d'**hydroxyde de sodium** [14]. La toxicité de ces produits découle essentiellement de leurs propriétés corrosives : un contact avec ces produits peut entraîner de graves lésions, notamment au niveau oculaire.

Les solvants

Les solvants sont utilisés tout au long de l'analyse à plusieurs escients :

- fixation des pièces (**éthanol** [15]) ;
- stockage par congélation des prélèvements extemporanés (**diméthylsulfoxyde** [16], **isopentane** [11]) ;
- déshydratation des prélèvements avant et après paraffinage (**éthanol**, **toluène** [17] ou **xylène** [18]) ;
- solvatation des colorants et réactifs d'immunohistochimie (**méthanol** [19], **éthanol**, **xylène**, **oxyde de diéthyle** ou **éther éthylique** [20], **acétone** [21]) ;
- dissolution des colles de montage de lame (**toluène**, **xylène**).

La plupart des solvants organiques provoque des troubles neurologiques (sommolence, vertiges, troubles de mémoire...) lors d'expositions répétées à des doses élevées. Ils peuvent induire des effets cutanés tels qu'une sécheresse de la peau et des dermatoses d'irritation. Ils sont également irritants pour les voies respiratoires.

Il est à noter que le **méthanol** est un solvant particulièrement toxique, non seulement par ingestion, mais aussi par inhalation et contact avec la peau.

À l'opposé, parmi les solvants utilisés, le **diméthylsulfoxyde** fait figure de cas particulier : des effets sur la santé n'ont été observés qu'après exposition à de fortes doses. Il s'agit cependant d'un composé facilement absorbé par la peau et qui peut ainsi favoriser le passage d'autres

substances, éventuellement plus nocives, dans l'organisme.

Les colorants

Les propriétés toxicologiques des colorants varient grandement d'une substance à l'autre, qu'il s'agisse des colorants employés pour les colorations de routine ou de ceux employés dans les colorations spéciales (*tableaux V et VI page 12*).

Certains sont hautement toxiques, comme le **monoxyde de mercure** [22] entrant dans la composition de l'hématoxyline de Harris (coloration de routine dite « de Papanicolaou »). Pour d'autres, comme le **bleu Alcian**, employé dans la coloration spéciale du même nom, aucun effet délétère sur la santé n'a été rapporté, bien que des symptômes d'irritation soient attendus en cas de contact au vu de sa structure chimique.

Toutefois, le recours des laboratoires à des colorants prêts à l'emploi permet d'éviter la manipulation des substances pures (souvent sous forme de poudre), les risques pour la santé résultant de l'exposition aux seuls colorants doivent par conséquent être modulés en prenant en compte la concentration généralement faible de ceux-ci dans les solutions colorantes. Souvent, ce seront alors les solvants, les acides ou les bases employés qui définiront les propriétés toxicologiques de ces solutions.

Les réactifs d'immunohistochimie

Il s'agit d'anticorps, de protéines et de substances révélatrices.

Très peu d'études sont disponibles sur les anticorps utilisés en immunohistochimie, leurs propriétés toxicologiques sont donc encore mal connues.

La toxicité des protéines couramment utilisées, la **biotine** et l'**avidine**, semble négligeable, seule une légère irritation en cas de contact de ces poudres avec l'œil a été observée [11].

Celle des substances révélatrices est, à l'instar des colorants, très variable d'une substance à l'autre. Certaines possèdent une toxicité

notable : la **diaminobenzidine** (DAB) est un cancérigène avéré et un mutagène suspecté [23].

Les produits d'inclusion et les colles

Le seul danger pour la santé présenté par les produits d'inclusion courants (**paraffine**) est le danger de brûlure thermique, quand ces produits sont manipulés à l'état fondu.

De même, les résines employées en tant que colles sont en général des polymères de méthacrylates à la toxicité négligeable (en l'absence de monomère résiduel). Le danger pour la santé posé par les colles provient alors surtout de leur solvant (voir paragraphe précédent), en général le **xylène** ou, moins fréquemment, le **toluène**, et de leur plastifiant éventuel, certains adhésifs contenant en effet des phtalates, tels que le **phtalate de butyle** et de **benzyle**, toxique pour la reproduction [24, 25].

2.2. Les risques d'incendie et d'explosion

L'accumulation de nombreux produits chimiques combustibles (**paraffine**, **solvants** et **substances organiques** en général) engendre un risque d'incendie [26]. Dans les laboratoires d'ACP, plusieurs sources d'inflammation accidentelles peuvent exister : décharges d'électricité statique, points chauds (chauffage de la paraffine pour l'inclusion des échantillons), étincelles d'appareillages électriques (automates), dégagement de chaleur et projections chaudes suite au contact accidentel de substances incompatibles (acides et bases, par exemple)... En outre, la présence de certaines substances oxydantes (**acide nitrique** concentré, par exemple) peut favoriser l'apparition d'un incendie et l'aggraver.

Le risque d'incendie sera donc particulièrement à craindre dans les locaux de stockage des produits chimiques et dans ceux des blocs de paraffine, dans

les locaux de fixation et ceux d'inclusion et de coloration.

Par ailleurs, l'utilisation de solvants (**oxyde de diéthyle** ou **éther éthylique**, **acétone**, **éthanol**, **méthanol**, **xylènes**, **toluène**, **isopentane...**), d'acide organiques (**acide acétique**) et de fixateurs (**formaldéhyde**, **glyoxal**) inflammables, voire très inflammables peut entraîner la formation d'atmosphères explosibles très localisées aux postes auxquels ils sont mis en œuvre (fixation, inclusion, coloration, collage...). Toutes les sources d'inflammation citées précédemment sont alors susceptibles de déclencher une explosion de faible envergure, pouvant entraîner un incendie [27].

Enfin, il est important de rappeler que l'**acide picrique** pur et sec est très instable et peut se décomposer violemment (explosion), sous l'effet d'un choc ou d'une température supérieure à 300 °C [28], par exemple. L'acide picrique, lorsqu'il est employé, l'est cependant uniquement sous forme de solution aqueuse : le risque de décomposition violente ne peut donc apparaître que lorsque l'eau s'est totalement évaporée.

2.3. Les risques liés à l'utilisation de liquides cryogéniques

L'azote liquide [29, 30, 31]

La toxicité intrinsèque de l'azote liquéfié est négligeable, néanmoins en raison de ses propriétés physiques, la manipulation d'azote liquide expose à des risques graves voire mortels : gelure et asphyxie.

L'azote liquide utilisé dans les laboratoires possède une température voisine de -200 °C. À la pression atmosphérique (1 013 mbar), l'azote liquide entre en ébullition à -196 °C. Par conséquent, le contact direct avec l'azote liquide, ses projections et celui avec ses vapeurs froides peuvent provoquer des brûlures cryogéniques.

Par ailleurs, lorsqu'il passe de la forme liquide à la forme gazeuse, le volume qu'il occupe s'accroît de façon extrêmement importante et rapide : dans les conditions normales de température et de pression, l'évaporation d'un litre d'azote liquide produit 696 litres d'azote gazeux. Cette évaporation peut engendrer localement une atmosphère à teneur réduite en oxygène. Le manque d'oxygène se traduit par des symptômes qui vont de la diminution des réflexes jusqu'à la perte de connaissance et à la mort dans les cas les plus graves.

Ce danger est particulièrement insidieux, car l'azote est incolore et inodore : un excès d'azote ne peut donc être détecté sans équipement spécifique.

En dernier lieu, du fait de sa température, l'azote liquide ne peut pas être considéré comme un fluide inerte. En effet, l'oxygène de l'air condense au contact du fluide cryogénique, ce qui peut conférer au mélange qui se forme ainsi peu à peu des propriétés oxydantes (le point d'ébullition de l'oxygène à la pression atmosphérique est en effet de -183 °C, plus de 10 °C au-dessus de celui de l'azote). Ce phénomène peut être notamment à l'origine de dépôts d'incendie.

L'isopentane [11]

Les risques toxicologiques et physiques associés à ce solvant ont été abordés aux paragraphes précédents (2.1. Le risque toxicologique, 2.2. Les risques d'incendie et d'explosion).

En cryogénie, l'isopentane est refroidi à -80 °C, le contact avec ce fluide peut donc entraîner des gelures. À cette température, les risques liés à son évaporation seront cependant négligeables, car sa tension de vapeur est alors très faible.

3. Démarche de prévention

Les chapitres précédents ont permis de dresser un bilan sur les risques d'exposition à des produits chimiques dangereux dans les laboratoires d'ACP. Un risque important d'exposition à des substances dangereuses pouvant être émises sous forme de gaz ou d'aérosol dans l'atmosphère des locaux de travail ainsi que des risques d'incendie et d'explosion ont été mis en évidence. Les mesures de prévention présentées par la suite s'appuient sur les principes de prévention des risques chimiques et découlent de ces constatations. Pour l'application de ces mesures, les flux de traitement des prélèvements et les activités spécifiques à chaque structure d'ACP devront être pris en compte.

3.1. Substitution

Le risque que présente un produit dangereux pour la santé et la sécurité du personnel doit être supprimé. Quand la suppression de ce risque est impossible, ce dernier est réduit au minimum par la substitution du produit dangereux par un autre produit ou par un procédé non dangereux ou moins dangereux, lorsque cela est techniquement possible.

Dans tous les cas, la substitution d'un produit dangereux par un autre qui l'est moins n'exonère pas de la mise en place de mesures de prévention, telles qu'un dispositif de captage à la source, si un risque d'émission de polluants dans l'atmosphère subsiste.

3.2. Mesures organisationnelles

Séparation des activités à risques chimiques

Afin de limiter le nombre de personnes exposées aux produits chimiques dangereux ou susceptibles de l'être, il convient

de séparer physiquement les activités de laboratoire des activités de microscopie, de bureau et d'accueil des patients. Il est, en outre, recommandé de mener les activités de macroscopie, d'inclusion, de coloration/immunohistochimie et de coupe dans des locaux différents.

Ce principe s'applique également au stockage. Le stockage des éléments consommables et celui des archives microscopiques et des blocs d'inclusion doit s'effectuer dans une pièce différente de celle dédiée au stockage des produits chimiques ou au stockage des prélèvements (figure 5).

Dans ce même esprit, à l'intérieur de la structure d'ACP, le parcours des prélèvements et des produits chimiques ne doit croiser ni celui des personnes en charge des tâches administratives, ni celui des patients.

Adaptation des méthodes de travail

Une réflexion sur les méthodes de travail doit être engagée.

Par exemple, le préremplissage des récipients destinés à contenir les prélèvements anatomiques, ainsi que leur vidange sont des manipulations très exposantes. Il convient donc de s'interroger sur leur nécessité. La première manipulation peut être éliminée par l'acquisition de récipients préremplis, disponibles en particulier pour les prélèvements de petite taille, la seconde par un accord avec l'entreprise chargée de collecter et de traiter les déchets du laboratoire, pour l'incinération globale des récipients avec leur contenu.

De même, l'automatisation de certaines opérations (remplissage des flacons de fixateur, coloration ou collage, par exemple) permet de limiter

le contact avec des substances dangereuses, sous réserve du respect des cycles de fonctionnement.

Par ailleurs, toute opération de transfert d'un prélèvement d'un poste de travail à un autre doit être réalisée en tenant compte des émissions de polluant : captage localisé lors du retrait ou de la mise en place des prélèvements, transfert en récipient fermé hermétiquement.

Mesures d'hygiène / Protection cutanée

En présence de produits chimiques et de prélèvements anatomiques, des mesures d'hygiène strictes doivent être appliquées : n'apporter aucun aliment ou boisson au poste de travail, bien se laver les mains avant chaque pause, ne pas mélanger vêtements de

ENCADRÉ 3

Nettoyage et désinfection du laboratoire d'ACP

L'utilisation de produits chimiques dangereux et de prélèvements biologiques susceptibles de contenir des agents pathogènes impose l'application de mesures d'hygiène strictes au sein du laboratoire d'ACP.

Lorsque l'emploi de détergents ne suffit pas à éliminer des surfaces les agents biologiques potentiellement pathogènes, celles-ci sont désinfectées après nettoyage.

Suivant les résultats de l'évaluation des risques biologiques dans les locaux, différents désinfectants peuvent être appliqués, dont, par exemple, l'hypochlorite de sodium (eau de Javel) à une concentration minimale de 2 % de chlore actif [44] ou des solutions d'ammoniums quaternaires.

En raison de leur instabilité [45], les solutions d'hypochlorite de sodium libèrent lentement du chlore gazeux, très irritant et toxique. Il est important de noter que la libération de chlore gazeux est accélérée, lorsque la solution d'hypochlorite de sodium entre en contact avec un acide ou est chauffée.

Les ammoniums quaternaires possèdent, quant à eux, des propriétés irritantes et sensibilisantes [46], tout contact direct (cutané ou par inhalation) avec ces biocides est donc à éviter.

Au vu des propriétés toxicologiques et physico-chimiques des produits de désinfection employés, il est nécessaire de maintenir les installations de ventilation en fonctionnement pendant toute la durée de l'opération de désinfection, avec, impérativement, un rejet de l'air extrait à l'extérieur du bâtiment (tout recyclage de l'air à l'intérieur du local ou du bâtiment doit être proscrit).

La technique de la désinfection de surfaces par voie aérienne (DSVA) est mise en œuvre notamment en cas de contamination accidentelle ou lorsque les éléments à désinfecter sont difficiles d'accès. Les interventions de maintenance sur les postes de sécurité microbiologique, par exemple, nécessitent leur désinfection préalable par voie aérienne. Les protocoles de DSVA

prévoient le plus souvent l'emploi d'un aérosol d'une solution de peroxyde d'hydrogène (3 % à 30 % en masse), associé ou non à l'acide peracétique [47]. Ces deux substances sont oxydantes et corrosives ; une valeur limite indicative d'exposition professionnelle sur huit heures est attachée au peroxyde d'hydrogène, elle est de 1 ppm ou 1,5 mg/m³ [6]. Afin d'assurer une répartition homogène de l'aérosol et un temps de contact suffisant pour éliminer les agents biologiques contaminants, la ventilation est arrêtée et le local rendu étanche avant le déclenchement du générateur d'aérosol. Par conséquent, toute présence humaine est à proscrire pendant la DSVA : cette procédure doit être conduite en dehors des heures de travail. De plus, avant d'autoriser de nouveau l'accès au local ainsi désinfecté, ce dernier doit être ventilé longuement (les valeurs limites d'exposition professionnelle doivent être respectées) ; par défaut, le volume d'air du local sera renouvelé au moins 10 fois. La temporisation programmée de la ventilation peut faciliter la réalisation de cette opération. Si une personne doit toutefois pénétrer dans le local immédiatement après la procédure de DSVA, pour assurer le déconfinement par exemple, celle-ci devra porter les équipements de protection individuelle adaptés à la tâche à effectuer (appareil de protection respiratoire muni d'un filtre de type AB2 NO P3, combinaison de type 4 et gants en caoutchouc butyle).

Exemple de calcul du temps d'attente avant d'autoriser l'accès au local désinfecté par DSVA :

Surface du local : 20 m²

Hauteur sous plafond du local : 3 m

Volume du local : 60 m³

Le local dispose d'une sorbonne avec un débit d'extraction de 800 m³/h.

Le renouvellement d'air de 10 fois sera donc obtenu en 0,75 heures, soit 45 minutes [10 x 60 m³ / 800 m³/h]).

ville et vêtements de travail (vestiaires à compartiments séparés), nettoyer soigneusement et éventuellement décontaminer les postes de travail (encadré 3).

Enfin, il est nécessaire de porter des gants spécifiques adaptés aux produits chimiques manipulés en respectant leur consignes d'entretien et d'utilisation [32, 33]. À noter que les gants fins en polychlorure de vinyle (gants vinyles) ou en latex naturel ne sont pas appropriés, car ils laissent

passer le formaldéhyde et les solvants couramment employés au laboratoire d'ACP.

Formation et information

L'implication de l'ensemble du personnel technique et administratif dans la démarche de prévention est essentielle à sa réussite. Pour cela, il est nécessaire, dans un premier temps, de le sensibiliser et de l'informer sur les risques auxquels il peut être exposé

sur son lieu de travail, puis de l'associer à l'évaluation des risques, à la définition et à la mise en place des mesures de prévention. Enfin, le personnel doit être formé au respect des consignes et à l'utilisation des moyens de protection mis à sa disposition.

Les sessions d'information et de formation doivent être renouvelées périodiquement et à chaque modification des tâches ou procédés mis en œuvre.

3.3. Principes de ventilation [34]

La recherche du niveau d'exposition le plus bas possible s'impose en donnant la priorité aux mesures de prévention collective. En cas d'exposition à un produit dangereux émis dans l'atmosphère, les dispositifs de captage à la source sont à privilégier quelle que soit la forme physique des produits manipulés (liquides volatils, poudres...). Une ventilation générale complémentaire de l'aspiration locale est toujours nécessaire pour éliminer les polluants résiduels non captés à la source.

Il est par ailleurs important de veiller à maintenir les locaux à pollution spécifique⁽²⁾ en dépression par rapport aux locaux à pollution non spécifique⁽³⁾.

Maintien en dépression des locaux à pollution spécifique

Dans les laboratoires d'ACP, la migration de l'air d'un local à pollution spécifique vers un autre local ne doit pas être possible.

En revanche, la ventilation par balayage depuis un local à pollution non spécifique vers un local à pollution spécifique est autorisée.

(2) Locaux dans lesquels des substances dangereuses ou gênantes, autres que celles qui sont liées à la seule présence humaine, sont émises sous forme de gaz, vapeurs, aérosols solides ou liquides. Les locaux pouvant contenir des sources de micro-organismes potentiellement pathogènes et les locaux sanitaires sont aussi considérés comme des locaux à pollution spécifique.

(3) Locaux dans lesquels la pollution est liée à la seule présence humaine, à l'exception des locaux sanitaires.

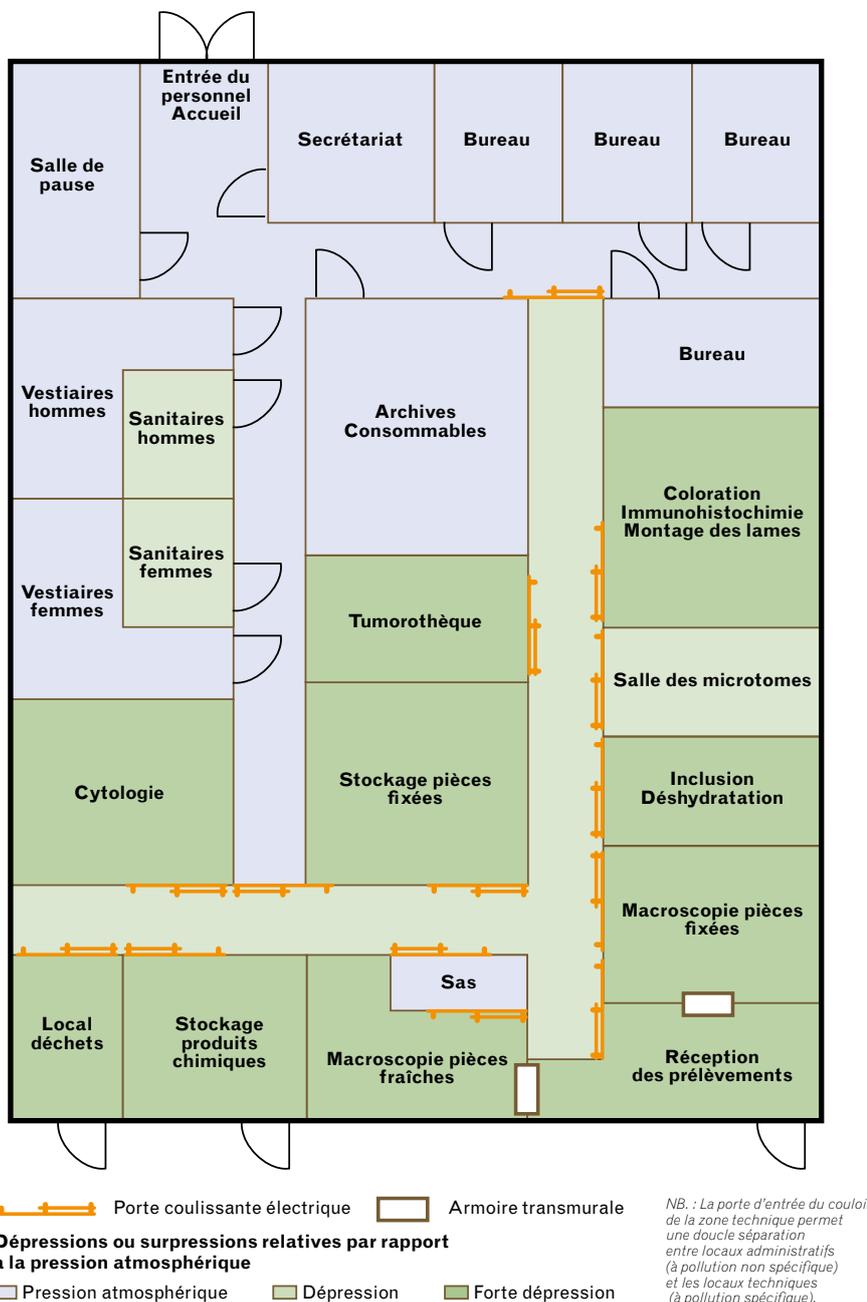


Figure 5. Exemple de réalisation pour la séparation des activités (différence de traitement de la ventilation de chaque local)

Afin d'éviter la contamination des locaux voisins par les passages d'air permanents ou occasionnels tels que les fuites ou les ouvertures des portes et d'assurer le bon fonctionnement des systèmes de captage, les locaux à pollution spécifique :

- sont isolés des autres locaux par des portes d'accès à fermeture automatique, voire des sas afin de mieux maîtriser le confinement ;
- sont maintenus en dépression ;
- doivent avoir leurs fenêtres fermées en période d'activité.

La mise en dépression de chaque local à pollution spécifique est assurée par les dispositifs d'aspiration à la source équipant les postes générant des polluants et par la ventilation générale.

Le confinement peut être amélioré par l'installation d'un sas, muni de portes asservies. Afin de maintenir ce confinement, une différence de pression entre les salles d'au moins 10 Pascal est recommandée. Le contrôle de la dépression de ces locaux est alors assuré par des manomètres différentiels.

Traitement de l'intégralité des sources de pollution

La ventilation par captage localisé consiste à capter les polluants (vapeurs, aérosols...) au plus près de leur source d'émission pour éviter qu'ils se dispersent dans l'atmosphère du laboratoire et soient inhalés par le personnel.

La salubrité de l'atmosphère du laboratoire ne peut donc être assurée que si toutes les sources de pollution sont traitées par ce moyen.

Disposition des équipements

Les équipements doivent être disposés de telle façon qu'à aucun moment les voies respiratoires de l'opérateur ne se trouvent entre la source d'émission de polluants (prélèvement anatomique, récipient rempli de fixateur...) et le point d'extraction.

Rejet de l'air extrait

L'air extrait doit être rejeté à l'extérieur du bâtiment après traitement adapté, suivant l'implantation et l'environnement extérieur du laboratoire d'ACP. Une attention particulière doit être portée au positionnement du rejet par rapport aux points d'entrée d'air (grilles, fenêtres...) et à la direction du vent dominant (*figure 6*).

Le recyclage de l'air extrait est à proscrire.

Note

Les filtres à charbon actif usuels pour vapeurs organiques ne sont pas adaptés à l'adsorption du formaldéhyde. La filtration de l'air avant son rejet à l'extérieur doit donc être assurée par des filtres à charbon actif spécifiquement traités pour l'adsorption du formaldéhyde.

Principes aérodynamiques de raccordement des systèmes de captage à un réseau d'extraction centralisé

Le raccordement des dispositifs de captage à un réseau d'extraction centralisé présente plusieurs avantages. Il permet de mieux maîtriser les rejets et le niveau sonore par rapport à plusieurs extractions indépendantes. De plus, dans un réseau équilibré, tous les conduits se trouvent en dépression, évitant les refoulements et la fuite de polluants vers les locaux de travail.

Afin d'obtenir un réseau équilibré, le calcul des pertes de charge doit être mené de façon rigoureuse.

Le dimensionnement du ventilateur doit tenir compte des débits d'extraction de tous les systèmes de captage raccordés, ainsi que des pertes de charges liées aux dispositifs de captage, au réseau et au groupe de filtration.

Il est également nécessaire de veiller à l'étanchéité des conduits et des raccordements.

Compensation d'air

Le volume d'air extrait doit être compensé par l'apport d'un volume équivalent d'air neuf, prélevé à l'extérieur des locaux en dehors des zones de rejet des polluants et en tenant compte du vent dominant. L'air neuf doit être tempéré et introduit à basse vitesse de façon à ne pas provoquer de courants d'air, tout en assurant une bonne homogénéité de la température dans le local. Les courants d'air peuvent en effet perturber le captage des polluants et constituer une source d'inconfort thermique.

En général, l'air de compensation est introduit à une vitesse inférieure à 0,5 m/s, afin d'atteindre une vitesse résiduelle inférieure à 0,2 m/s dans

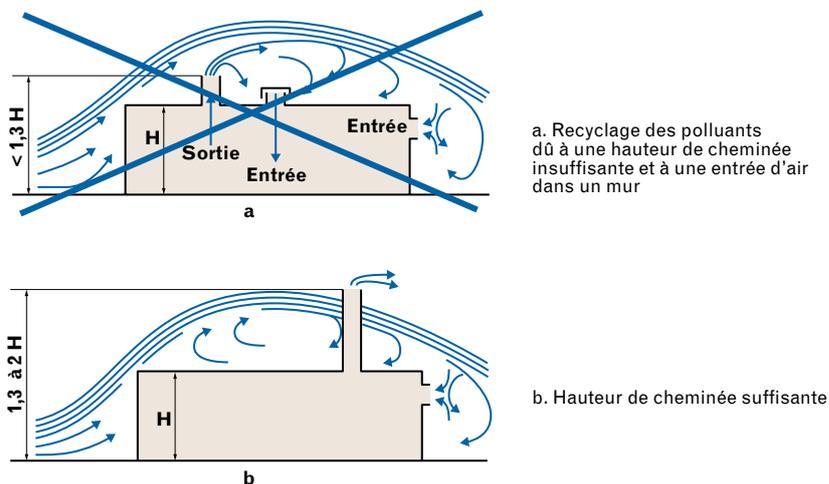


Figure 6. Rejet de l'air extrait à l'extérieur du bâtiment

la zone d'occupation⁽⁴⁾. L'utilisation de gaines textiles diffusantes ou de plafonds soufflants permet d'introduire d'importants débits d'air à de faibles vitesses. La *figure 7* illustre l'intérêt de la diffusion d'air par déplacement (introduction d'air de compensation à basse vitesse) sur la diffusion d'air par mélange.

Ventilation en dehors des heures de présence du personnel

La ventilation générale dans les laboratoires d'ACP doit être permanente. Les dispositifs de captage localisés doivent continuer de fonctionner quand le personnel a quitté le laboratoire, dès lors que des sources de pollution persistent. En l'absence du personnel, une diminution du débit de captage peut être tolérée, si le poste de travail est encoffré et que la vitesse d'air dans son plan d'ouverture permet d'assurer le confinement des polluants (maintenir une vitesse d'air au moins égale à 0,3 m/s en tout point du plan d'ouverture).

(4) La zone d'occupation est définie par un volume compris entre le sol et une hauteur de 1,80 m.

ENCADRÉ 4

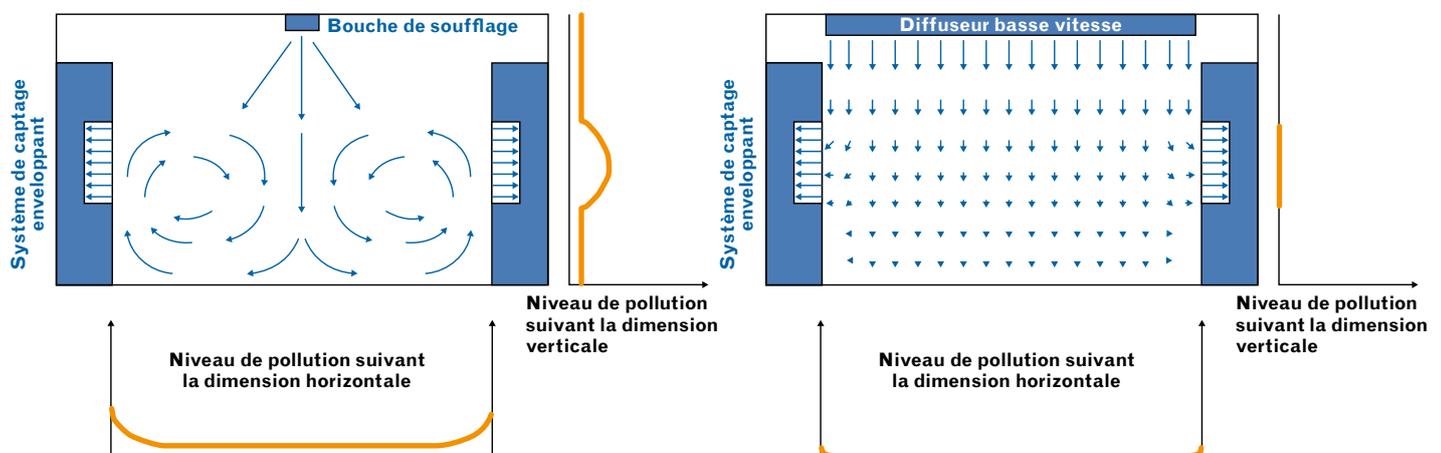
Niveau sonore des installations de ventilation

Le fonctionnement des installations de ventilation génère souvent du bruit. Celui-ci est non seulement source d'inconfort, mais peut aussi altérer l'audition. Il convient donc de limiter les effets sonores de ces installations.

En règle générale, au-delà de 50 dB(A) l'installation de ventilation ne devrait pas générer une émergence de plus de 2 dB(A), mesure réalisée par rapport au bruit ambiant pendant l'activité habituelle ventilation à l'arrêt. Le niveau sonore dû à l'installation de ventilation ne devrait pas excéder 55 dB(A) au poste de travail.

Afin d'atténuer le bruit produit par les installations de ventilation, les moyens suivants peuvent, par exemple, être mis en œuvre :

- respecter les règles de conception des réseaux aérauliques pour limiter les phénomènes de turbulence (ces règles sont détaillées dans le guide pratique de ventilation n° 0 [34]) ;
- limiter la vitesse de transport de l'air dans les conduits (inférieure à 8 m/s dans les conduits principaux, inférieure à 7 m/s dans les conduits de dérivation et inférieure à 4 m/s au niveau du raccordement aux bouches [48, 49]) ;
- dimensionner le ventilateur de façon appropriée à l'installation ;
- placer les ventilateurs à l'extérieur des locaux de travail (la préservation de l'environnement peut alors exiger la mise en place de silencieux et d'écrans spécifiques) ;
- préférer les ventilateurs centrifuges à aubes profilées ;
- monter les moto-ventilateurs sur un socle lourd désolidarisé de la structure porteuse par des dispositifs antivibratiles et désolidariser le réseau du ventilateur en plaçant des manchons antivibratiles sur les tuyauteries aval et amont de ce dernier ;
- encoffrer les ventilateurs ;
- réaliser un découplage vibratoire des conduits par rapport à la structure du bâtiment (installation de suspentes ou de colliers antivibratiles), suspendre les conduits à la structure par des dispositifs élastiques ;
- assurer l'étanchéité de chaque raccordement de tuyauterie.



Diffusion d'air par mélange

Une vitesse d'air importante est nécessaire au mélange de l'air neuf avec l'air ambiant du local. La vitesse élevée du flux d'air entraîne un écoulement turbulent qui peut perturber les systèmes de captage localisés et provoquer l'émission de polluants dans l'air ambiant. Par ailleurs, les courants d'air ainsi générés sont souvent une source d'inconfort.

Diffusion d'air par déplacement

La large surface du diffuseur permet l'introduction d'air à faible vitesse. L'écoulement d'air de type « piston » assure un bon fonctionnement des dispositifs de captage localisés et permet de climatiser efficacement la zone d'occupation du local.

Figure 7. Compensation d'air : diffusion d'air par mélange ou par déplacement (Remarque : La longueur des flèches est proportionnelle à la vitesse du flux d'air.)

ENCADRÉ 5

Implantation des postes de travail

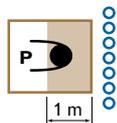
L'implantation d'un poste de travail sur lequel sont manipulés des substances dangereuses ou des prélèvements anatomiques doit être telle qu'aucun courant d'air n'entrave l'efficacité du système de captage localisé.

Le respect de distances minimales entre les différents équipements du local de travail et les voies de passage permet d'éviter une perturbation des flux de captage. Les distances minimales recommandées sont présentées dans les schémas suivants.

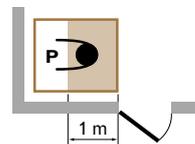
DISTANCES MINIMALES CONSEILLÉES

Emplacements	Distance (m)	Voir illustration ci-dessous
<i>Entre la façade du poste et :</i>		
- une voie de circulation habituelle	1	a
- une paillasse parallèle au poste et utilisée par le même opérateur	1,4	b
- un mur opposé (ou autre obstacle à l'écoulement de l'air)	2	c
- la façade d'un autre poste	3	d
- une porte dans un mur perpendiculaire au poste	1	e
<i>Entre l'extrémité du poste et :</i>		
- un mur ou un autre obstacle perpendiculaire au poste	0,3	f
- une colonne placée en avant du poste	0,3	g
- une porte dans un mur parallèle au poste	0,3	h
- une paillasse adjacente	1	i

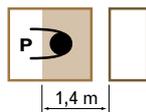
a) Distance entre poste et zone de passage habituel



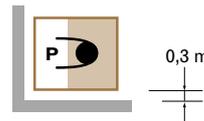
e) Porte dans mur perpendiculaire



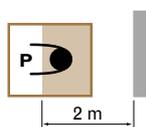
b) Distance entre poste et paillasse opposée (sans zone de passage habituel)



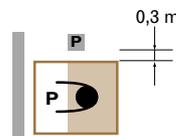
f) Distance entre poste et mur perpendiculaire



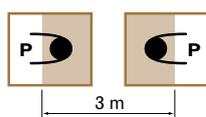
c) Distance entre poste et mur opposé



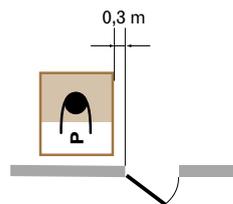
g) Distance entre poste et pilier placé en avant



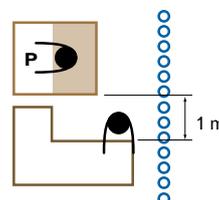
d) Distance entre postes opposés



h) Porte dans mur parallèle



i) Paillasse adjacente



LÉGENDE



Zone de protection du poste (surface dans laquelle l'écoulement ne doit être perturbé par personne d'autre que l'opérateur)



Paillasse



Voie de passage



Pilier



Mur ou séparation au-dessus du plan de travail



Opérateur

3.4. Préconisations de ventilation par poste

Réception et enregistrement des prélèvements

À ce poste, les récipients contenant les prélèvements doivent être placés dans une enceinte ventilée, afin d'éviter l'exposition du personnel, en cas de défaut d'étanchéité d'un récipient. La *figure 8* décrit la configuration minimale d'une telle enceinte :

- enceinte à façade ouverte, dont la taille est adaptée à la quantité de prélèvements traités par le laboratoire ;
- ventilation à flux horizontal entrant, la vitesse du flux d'air en tout point du plan d'ouverture ne devant pas être inférieure à 0,3 m/s ;

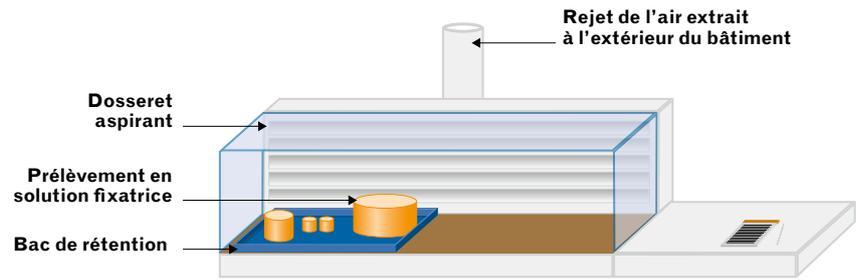


Figure 8. Exemple d'enceinte pour la réception des prélèvements

- présence d'un bac de rétention, dont la capacité est au moins égale au volume du plus grand des récipients attendus ;
- éclairage permettant de lire sans effort les étiquettes des récipients placés dans l'enceinte ventilée (l'éclairage peut être placé à l'intérieur de l'enceinte,

dans le cas contraire il faut veiller à éviter tout reflet sur les parois vitrées).

Il est important de rappeler que le poste de réception n'est pas adapté au reconditionnement d'un prélèvement. Une telle opération de reconditionnement doit être effectuée au poste de macroscopie.

ENCADRÉ 6

Recommandations pour la collecte des prélèvements externes au laboratoire d'ACP

Le transport des matières présentant un risque biologique ou chimique est soumis aux dispositions de l'arrêté modifié du 29 mai 2009 relatif aux transports de marchandises dangereuses par voies terrestres (dit « arrêté TMD »), mettant en œuvre l'accord européen relatif au transport international des marchandises dangereuses par route (ADR), entré en vigueur le 29 janvier 1968 et régulièrement amendé et actualisé depuis [50].

Les échantillons prélevés sur des patients à des fins de recherche, de diagnostic, d'enquête, de traitement ou de prévention sont pris en considération dans la classe de transport n° 6.2 « Matières infectieuses ».

Le transport de ces prélèvements pourra être exempté de l'application de l'ADR, en particulier si :

- les matières sont sous une forme sous laquelle les pathogènes éventuellement présents ont été neutralisés ou inactivés de telle manière qu'ils ne présentent plus de risque pour la santé ;
- les échantillons présentent un risque minimal de contenir des agents pathogènes et sont transportés dans un emballage conçu pour éviter toute fuite et portant la mention « Échantillon humain exempté ».

Concernant les échantillons transportés après fixation, il convient également de vérifier si les fixateurs utilisés pour la conservation des prélèvements constituent des matières dangereuses au sens de la réglementation sur le transport par route (section 14 de la fiche de données de sécurité du fixateur « Informations relatives au transport »).

Les recommandations suivantes visent à éviter une exposition de toutes les personnes impliquées dans le transport d'un prélèvement : du lieu de biopsie au laboratoire d'ACP en passant par le service de coursier.

Pour le lieu de biopsie

- Placer les prélèvements dans des récipients adaptés et étanches, dont le contenu est clairement identifié.
- S'assurer de l'étanchéité des récipients après leur fermeture.
- Veiller à ne pas souiller la fiche de suivi du prélèvement ; pour cela placer le récipient dans un sac plastique transparent contenant une pochette séparée pour la fiche de suivi.
- Prévoir un lieu de transmission des prélèvements propre et ventilé muni d'un plan de travail, adapté au volume des prélèvements à transporter, à l'usage du coursier.

Pour le service de coursier

- Prévoir des contenants fermant de façon étanche pour le transport des prélèvements (caisses, sacs...) et strictement réservés à cette fonction.
- Prévoir un produit absorbant adapté en cas de fuite.
- Mettre à disposition un véhicule de collecte équipé d'un habitacle isolé du compartiment de transport [51].
- Le compartiment de transport du véhicule de collecte doit comporter une tourelle d'extraction, de préférence électrique.
- La surface du compartiment de transport du véhicule de collecte doit être facile à nettoyer (surface lisse, sans zone inaccessible, etc.).
- Accepter uniquement les prélèvements clairement identifiés et placés dans des récipients propres et étanches.
- S'assurer de l'arrimage correct des charges avant chaque course.

Pour le laboratoire d'ACP

- Prévoir un lieu de déchargement propre et aéré avec un plan de travail, adapté au volume des prélèvements collectés, à l'usage du coursier.

Note

Si les prélèvements sont déballés et enregistrés sur le lieu de déchargement, un poste ventilé, comme décrit au chapitre 3.4 « Réception et enregistrement des prélèvements », doit être prévu.

ENCADRÉ 7**Fixation de la pièce sur le lieu de prélèvement**

Lorsque le prélèvement doit être fixé sur place, au bloc opératoire par exemple, les mêmes précautions qu'au laboratoire d'ACP doivent entourer la manipulation et le stockage du fixateur. Pour l'immersion de la pièce dans le bain de fixation, un poste muni d'un système de captage enveloppant (avec rejet à l'extérieur du bâtiment), dont les caractéristiques aéroulques sont semblables à celles décrites pour le poste de macroscopie, doit être à disposition.

Néanmoins, plusieurs techniques permettent d'éviter la fixation d'un prélèvement au bloc opératoire. Par exemple, pour son transport et sa conservation jusqu'au laboratoire d'ACP, la pièce opératoire peut être soit placée dans une enceinte réfrigérée, soit mise sous vide dans un sachet hermétique et préalablement stérilisé prévu à cet effet. Afin d'améliorer la conservation des pièces, ces deux techniques peuvent être combinées.

Macroscopie et échantillonnage

L'enceinte ventilée dédiée à l'examen macroscopique doit être assez spacieuse pour pouvoir contenir tous les équipements nécessaires à cette opération, en plus du prélèvement :

- équipement de rinçage du prélèvement et système de récupération des eaux de rinçage ;
- alimentation en solution fixatrice et système de récupération de cette solution ;
- équipement de pesée du prélèvement ;
- matériel de dissection et d'échantillonnage ;
- système de récupération des déchets solides, dont l'ouverture se trouve dans l'enceinte ventilée (poubelle ventilée intégrée au poste, voir encadré 8 p. 28) ;
- espace pour la prise de note, séparé et protégé de toute contamination (le travail de front à un poste unique est déconseillé en raison des perturbations du flux d'air qu'il génère) ;

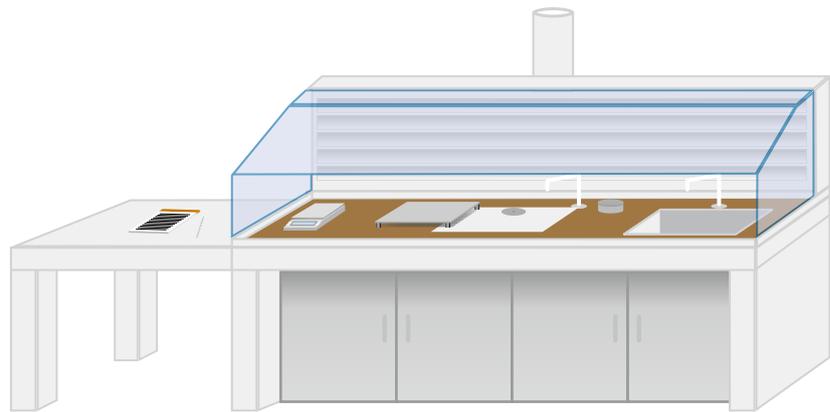


Figure 9. Exemple d'enceinte pour l'examen macroscopique

- équipement de photographie ;
- matériel de reconditionnement.

Le système de captage enveloppant doit assurer une vitesse moyenne du flux d'air dans le plan d'ouverture supérieure ou égale à 0,5 m/s avec aucun point inférieur à 0,4 m/s. L'utilisation d'une sorbonne [35], qui est un dispositif de confinement spécialement développé pour la manipulation de produits chimiques, peut être également recommandée pour les opérations de macroscopie et d'échantillonnage (pour rappel, il existe une série de normes européennes relatives aux sorbottes, EN 14175-1 à 7).

En raison d'un risque important de dispersion accidentelle de produits liquides, le plan de travail doit permettre de contenir et récupérer tout déversement. Enfin, une attention particulière doit être portée à l'éclairage de ce poste ; il doit permettre l'observation en détail de la pièce, pour cela il doit être suffisamment puissant et ne pas créer de reflets gênants pour l'observation (la qualité de l'écran et le positionnement de l'éclairage général du local sont des paramètres importants). La *figure 9* illustre la conception d'une telle enceinte.

Remarque

Pour certaines pièces volumineuses fixées, un risque d'exposition à des agents biologiques par inhalation est possible lors de la macroscopie (manipulation de poumons, percement de poches de liquides). En effet, du fait de leur taille, ces pièces ne sont pas toujours

fixées « à cœur ». Ces pièces à risque doivent être dirigées vers un poste de sécurité microbiologique, en abrégé PSM (voir chapitre suivant « Examen de prélèvements frais »).

Rappel

Dans tous les cas, l'air extrait doit être rejeté à l'extérieur du bâtiment. Tout recyclage de l'air extrait est à proscrire.

Examen de pièces fraîches (extemporané* ou non)

L'analyse macroscopique d'une pièce non fixée doit être pratiquée à un poste de sécurité microbiologique (PSM) [36]. Le PSM de type I [37, 38] convient à cette activité, dans la mesure où aucune protection des pièces contre une contamination éventuelle par l'atmosphère du laboratoire n'est requise (*figure 10*). Le PSM de type I consiste en un poste de travail ventilé d'un fonctionnement identique à celui d'une sorbonne munie de filtres à particules à haute efficacité (HEPA) et répondant aux exigences de la norme NF EN 12469 « Biotechnologie. Critères de performance pour les postes de sécurité microbiologique ».

Ce poste de travail doit être assez spacieux pour contenir tous le matériel de dissection, d'échantillonnage, de préparation des lames et de coloration nécessaire à l'examen. De plus, un évier avec récupération des eaux doit y être prévu pour le rinçage du prélèvement tissulaire. Afin d'éviter le transport de pièces non fixées d'un poste de travail à un autre, il est préférable

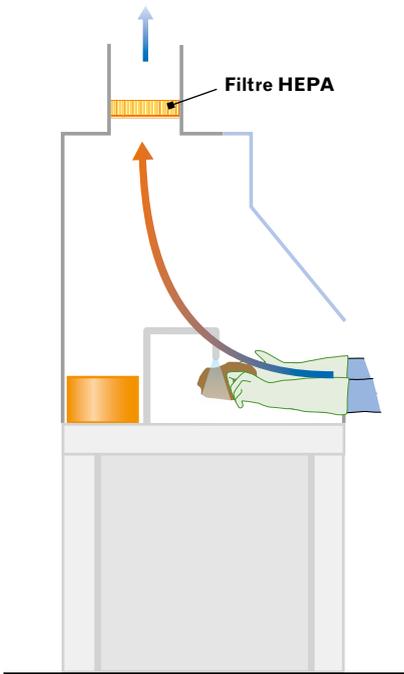


Figure 10. Examen d'une pièce non fixée sous PSM de type I

de prévoir également à ce poste une alimentation en solution fixatrice.

Les dimensions et la configuration d'un PSM de type I ne sont pas prescrites par la norme NF EN 12469, qui définit uniquement des objectifs de sécurité à atteindre :

- étanchéité ;
- capacité au nettoyage ;
- capacité à la stérilisation ;
- contrôle continu des paramètres de ventilation.

Ainsi un poste de macroscopie tel que décrit au paragraphe précédent (« Macroscopie et échantillonnage ») peut être utilisé pour l'examen de pièces fraîches, à condition qu'il soit muni d'un filtre HEPA (placé en amont du filtre à charbon actif) et qu'il respecte les critères de performances exigés par la norme EN 12469.

Quel que soit le type de PSM choisi, l'air extrait du PSM doit être rejeté à l'extérieur du bâtiment après filtration. Deux possibilités de raccordement existent : raccordement direct du PSM au réseau de ventilation centralisé ou

positionnement d'un dispositif de captage en regard de la bouche de rejet du PSM qui est muni de son propre ventilateur ; dans ce dernier cas, le débit d'air extrait doit être supérieur au débit d'air rejeté par le PSM (figure 11).

Par ailleurs, les automates utilisés pour la congélation des pièces fraîches avant leur coupe doivent faire l'objet d'une attention particulière. S'ils contiennent de l'azote liquide, ils doivent être placés dans un local ventilé en permanence, ne communiquant pas par des trappes ou d'autres ouvertures (gaine technique...) avec des locaux situés à des niveaux inférieurs. L'installation de ce type d'équipement dans des locaux souterrains est à éviter. Lorsque le fluide cryogénique est un solvant organique, tel que l'isopentane, il est nécessaire de tenir compte de son inflammabilité : mise à la terre de l'équipement et élimination de toute source d'inflammation (points chauds, appareils ou surfaces susceptibles de générer des étincelles par décharge électrostatique, par exemple).

La mise à niveau et la vidange de ces automates doivent être effectuées dans une zone ventilée avec rejet de l'air extrait à l'extérieur du bâtiment.

Fixation, inclusion, décalcification, coloration, immunomarquage*, montage des lames.
Préparation des réactifs, des solutions fixatrices, préremplissage des récipients

Les opérations de fixation, d'inclusion, de décalcification, de coloration, d'immunomarquage* et de collage des lames sont généralement réalisées à l'aide d'automates. Les automates doivent être équipés d'un système de captage des vapeurs, avec rejet à l'extérieur du bâtiment après épuration éventuelle. Une alternative consiste à placer un dispositif de captage en regard de la bouche de rejet de l'automate ; dans ce cas, le débit d'air extrait doit être supérieur au débit d'air rejeté par l'automate. En l'absence de tels systèmes, les automates doivent être placés dans une enceinte maintenue en dépression en permanence (par exemple, un caisson ventilé, une sorbonne...), présentant les mêmes performances aérodynamiques que précédemment.

Par ailleurs, suivant le procédé utilisé pour le montage des lames, une enceinte ventilée peut s'avérer nécessaire pour le séchage de l'adhésif.

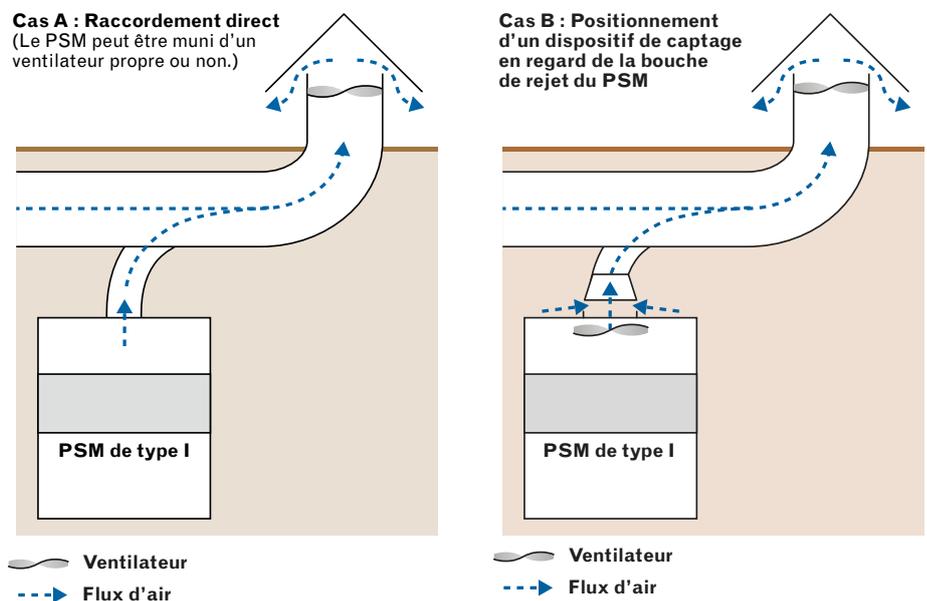


Figure 11. Raccordement des PSM au réseau de ventilation

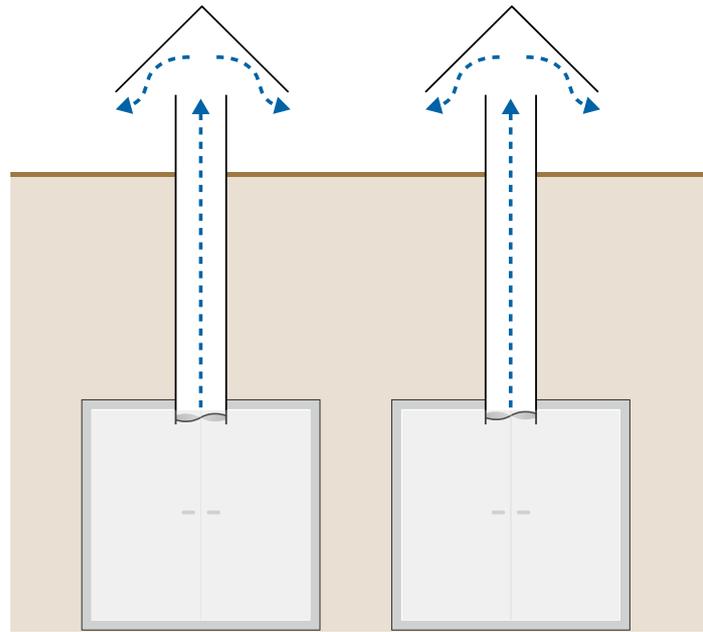
Les opérations manuelles, telles que la préparation, le remplissage et la vidange des solutions fixatrices, des solvants et des réactifs, doivent être évités dans la mesure du possible. De façon générale, afin d'éviter l'exposition du personnel, l'utilisation de recharges à usage unique pour les automates, de solutions prêtes à l'emploi et de flacons préremplis est à privilégier. Néanmoins, si de telles manipulations s'avèrent nécessaires, elles doivent avoir lieu dans une enceinte ventilée de dimension adaptée à l'opération et munie d'un bac de rétention. La vitesse moyenne du flux d'air dans le plan d'ouverture de cette enceinte doit être supérieure ou égale à 0,5 m/s avec aucun point inférieur à 0,4 m/s. Pour ces opérations, l'utilisation d'une sorbonne [35] peut également être recommandée.

Stockage des prélèvements fixés et des produits chimiques

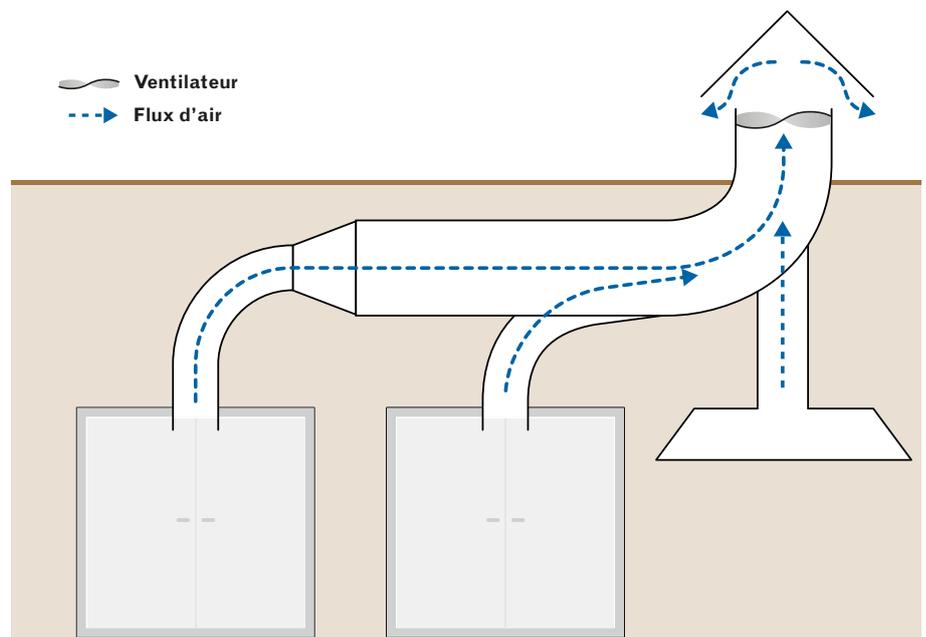
Les récipients contenant les prélèvements fixés et les produits utilisés pour l'analyse doivent être conservés séparément, dans des armoires distinctes, mises en dépression. Une attention particulière doit être portée à la répartition d'air dans ces armoires : l'air doit pouvoir circuler entre les récipients et les rayonnages. Il est recommandé de porter son choix sur des armoires sans ventilateur intégré et de les raccorder au réseau d'extraction centralisé. Les vapeurs extraites seront rejetées à l'extérieur du bâtiment après traitement.

Les armoires équipées d'un ventilateur intégré présentent l'inconvénient de générer une surpression dans le conduit de rejet, augmentant les risques de réintroduction des polluants dans le local. Pour éviter les phénomènes de refoulement d'air pollué dans les locaux de travail par l'intermédiaire des autres dispositifs de captage, une attention particulière doit être portée au mode de raccordement de ce type d'armoires au réseau (figure 12) :

- armoires raccordées à des conduits de rejet indépendants: dans ce cas le ventilateur de l'armoire doit être capable de compenser les pertes de



Cas A : Armoires équipées d'un ventilateur intégré, avec conduit d'extraction indépendants



Cas C : Armoires sans ventilateur intégré, raccordées à un réseau de ventilation centralisé

Figure 12. Raccordement des armoires de stockage au réseau de ventilation

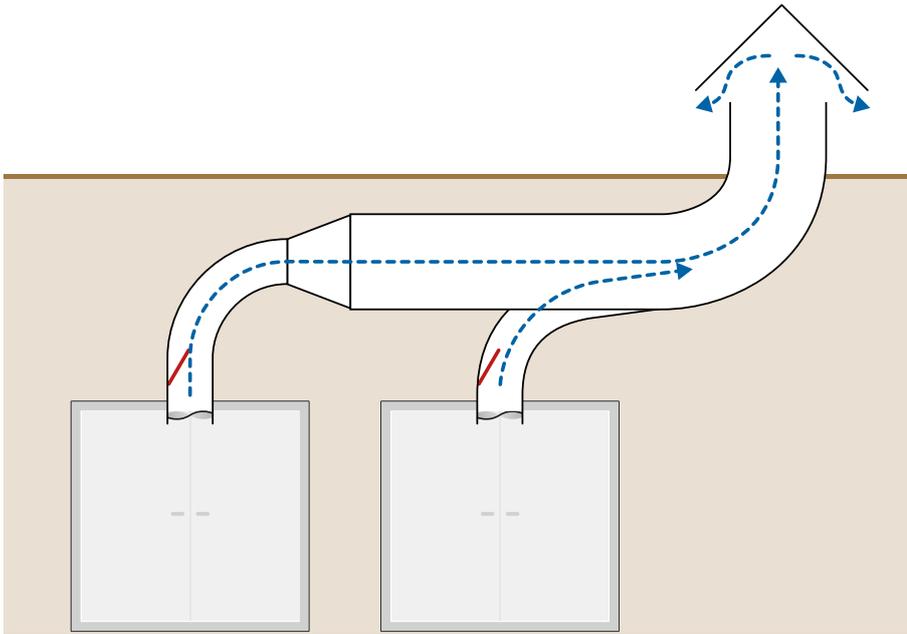
charge générées par le conduit de rejet qui doit être parfaitement étanche ;

- armoires raccordées à un réseau de ventilation centralisé: prévoir un clapet antiretour pour chaque armoire et dispositif de captage.

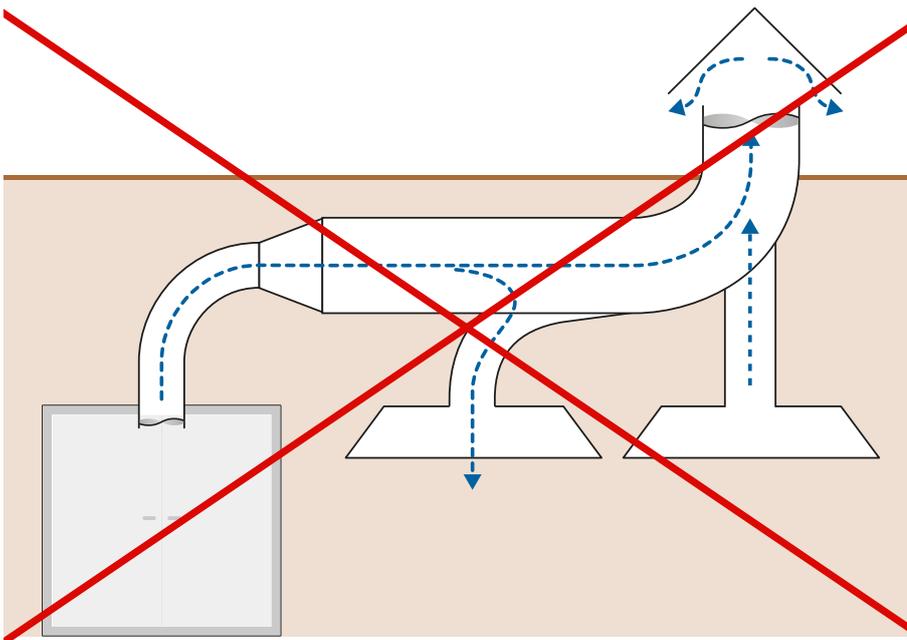
Les armoires de stockage doivent être, par ailleurs, munies de dispositifs de rétention adaptés aux volumes entreposés pour éviter toute dispersion en cas de détérioration d'un emballage.

À défaut d'armoire ventilée, les prélèvements fixés et les produits chimiques peuvent être conservés dans des locaux de stockage ventilés et distincts, strictement réservés à cet usage.

L'installation de ventilation assure alors un renouvellement d'air de 4 à 6 volumes par heure, ce débit pouvant être porté à 20 volumes par heure en cas de dispersion accidentelle [39], dans tous les cas une dépression de 10 Pa, au minimum, est maintenue



Cas B : Armoires équipées d'un ventilateur intégré, raccordées à un réseau de ventilation centralisé



Cas D : Raccordement d'une armoire, équipée d'un ventilateur intégré, à un réseau de ventilation centralisé : à éviter. Si la puissance du ventilateur du réseau centralisé est insuffisante, le ventilateur de l'armoire crée une surpression dans le conduit. Cette surpression entraîne une inversion du flux d'air au niveau des autres dispositifs de captage et par conséquent le rejet d'air extrait pollué dans les locaux de travail.

dans le local. Les entrées d'air neuf et les points d'extractions doivent être diamétralement opposés, de façon à éviter la formation de « zones mortes ». La ventilation y est permanente.

Par ailleurs, afin d'éviter les risques d'explosion et de limiter les conséquences d'un incendie, des mesures de conception constructives (matériaux incombustibles, mise en place de portes coupe-feu...) et organisa-

tionnelles (suppression des sources d'inflammation...) doivent être appliquées aux lieux de stockage [26, 27].

De plus, lors de l'aménagement du stockage, il est nécessaire de prendre en compte l'incompatibilité de certains produits, qui peuvent réagir de façon dangereuse s'ils entrent en contact [39].

L'espace de stockage des produits chimiques n'est en général pas conçu

pour les opérations de transvasement. Bien que déconseillé de manière générale, si un transvasement de produit chimique est effectué dans un local de stockage, celui-ci doit avoir lieu sous une sorbonne [35], ou, à défaut, à un poste muni d'un système de captage enveloppant, présentant les mêmes performances aérauliques que celui décrit pour le poste de macroscopie.

Le stockage des produits cryogéniques (azote liquide...) nécessaires au traitement des pièces fraîches constitue un cas particulier. Il est recommandé de stocker les récipients d'azote liquide dans des locaux ventilés dédiés, dont l'accès est réservé aux seules personnes habilitées, et de ne conserver au poste de travail que la quantité nécessaire à l'activité de la journée. Ces locaux ne doivent pas être situés en sous-sol et ne doivent pas communiquer par des trappes ou d'autres ouvertures (gaine technique...) avec des locaux situés à des niveaux inférieurs. Le taux d'oxygène des locaux de stockage d'azote liquide doit être contrôlé en permanence à l'aide d'un oxymètre, une alarme sonore doit se déclencher lorsque ce taux est inférieur à 19 % [40, 31].

Élimination des déchets

Plusieurs types de déchets sont à considérer :

- les pièces anatomiques (prélèvement anatomique aisément identifiable pour un non-spécialiste: un membre ou un organe, par exemple) ;
- les déchets anatomiques (prélèvement anatomique non aisément identifiable pour un non-spécialiste: un fragment tissulaire, un frottis, par exemple) ;
- les bains usagés de déshydratation, hydratation, coloration, etc. ;
- les papiers d'essuyage, consommables et équipements de protection individuelle (EPI) à usage unique souillés par des produits chimiques et les prélèvements ;
- les emballages primaires et secondaires des prélèvements ;
- les restes de produits chimiques dans leur emballage d'origine.

Les conditions d'entreposage des déchets présentant des risques infectieux (déchet d'activité de soins à risques infectieux et assimilés ou DASRI), avant leur élimination, sont encadrées réglementairement. Celles-ci dépendent de la quantité mensuelle de DASRI générée par l'activité. Dans tous les cas, les DASRI doivent être collectés dans des conteneurs spécifiques, conçus pour prévenir la propagation et l'inoculation accidentelle d'agents potentiellement pathogènes. Jusqu'à leur enlèvement, ces déchets placés dans leur emballage DASRI fermé sont entreposés dans une zone intérieure dédiée ou dans un local dédié ventilé comme décrit pour le stockage des prélèvements fixés et des produits chimiques. Les DASRI peuvent être entreposés dans le même local que les autres déchets, pourvu que l'emplacement de chaque type de déchet soit clairement indiqué [41].

La réglementation impose que tous les déchets anatomiques, même ceux qui ne présentent pas de risque

infectieux, soient éliminés comme des DASRI.

Les pièces anatomiques suivent une filière d'élimination spécifique, différente de celle des déchets anatomiques. Jusqu'à leur incinération dans un crématorium autorisé, les pièces anatomiques doivent être entreposées dans des enceintes frigorifiques ou de congélation dédiées.

Les bains de traitement usagés ainsi que les papiers d'essuyage, les consommables et les EPI à usage unique doivent être éliminés suivant la filière DASRI, dès lors qu'ils présentent un risque infectieux.

Les déchets chimiques sans risque infectieux doivent être entreposés dans un local dont la conception et la ventilation doivent satisfaire aux mêmes exigences que celles du lieu de stockage des produits chimiques. Les déchets chimiques sans risque infectieux pourront être entreposés dans une section du local de stockage des produits

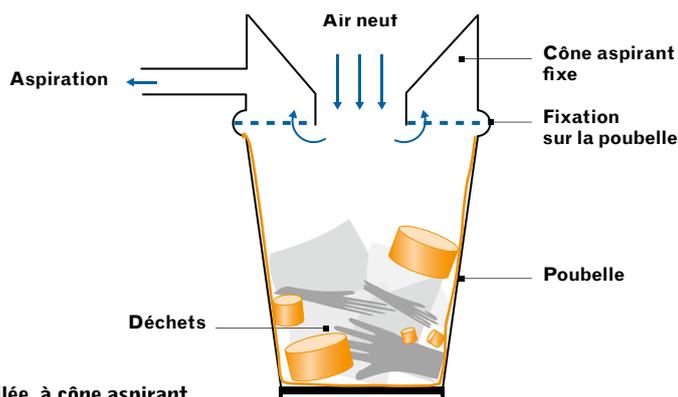
ENCADRÉ 8

Des poubelles ventilées pour recueillir les déchets

Les vapeurs libérées par les déchets (papiers d'essuyage, consommables souillés...) peuvent entraîner une pollution importante de l'atmosphère des locaux. En outre, lorsque les déchets sont imbibés de liquides inflammables (solutions de fixateurs, d'alcool, xylène...), non seulement ils constituent un foyer d'incendie potentiel, mais les vapeurs de ces produits peuvent aussi former localement une atmosphère explosible.

L'utilisation de poubelles ventilées permet de remédier à cette pollution : le système d'extraction des polluants placé sur la partie supérieure de la poubelle évite le relargage des substances volatiles contenues dans les déchets.

Pour les postes de macroscopie, par exemple, il est conseillé d'intégrer une poubelle dans un caisson ventilé situé sous le plan de travail. Les déchets sont jetés à travers une ouverture aménagée dans le plan de travail du poste de macroscopie, évitant ainsi une pollution du local de travail.



ENCADRÉ 9

Proscrire la réutilisation des fixateurs

D'une manière générale l'ouverture des récipients dans le but de séparer les prélèvements des solutions de conservation est à proscrire.

Si, exceptionnellement, une telle séparation doit être réalisée, celle-ci a lieu à un poste dédié et ventilé. Les exigences de ventilation sont alors identiques à celles du poste de macroscopie. Le plan de travail de ce poste doit permettre de contenir et récupérer tout déversement, les équipements suivants y sont prévus :

- système de récupération ventilé des déchets anatomiques ;
- système de récupération ventilé de la solution fixatrice, muni d'une sonde de niveau, afin d'éviter tout débordement ;
- évier servant au rinçage des récipients, intégré dans l'enceinte ventilée et muni d'un système de récupération des effluents.

chimiques, en tenant compte de leur incompatibilité éventuelle, à condition que cette section soit dédiée aux déchets chimiques, ait son propre système de rétention et soit clairement signalée. Dans tous les cas, il convient d'appliquer les mêmes règles d'étiquetage que celles requises pour les produits chimiques mis sur le marché.

S'ils sont compatibles entre eux, les bains de traitement usagés ne présentant pas de risque infectieux peuvent être rassemblés dans un même conteneur étanche, adapté à leur conservation et à leur transport. Les restes de produits chimiques sont, de préférence, à garder dans leur emballage d'origine. Ce dernier est en effet adapté à leur conservation et à leur transport.

Remarque

Un emballage qui a été vidé contient toujours une petite quantité résiduelle de produit. Lorsque le produit contenu était inflammable, une atmosphère explosible peut se former à l'intérieur de cet emballage à partir des résidus. Les mesures de prévention contre le risque d'explosion doivent donc être appliquées lors de la manipulation de ces emballages, réputés « vides » [27].

Enfin, tout déchet susceptible d'émettre des polluants chimiques doit être placé

dans un conteneur adapté ventilé (*voir encadré 8*), qui sera hermétiquement fermé avant son enlèvement.

3.5. Règles d'usage et contrôle des installations de ventilation

Règles d'usage des postes de travail munis d'un système de captage enveloppant

Afin d'assurer le bon fonctionnement des systèmes de captage enveloppant et de ne pas réduire leur efficacité, il est nécessaire de respecter un certain nombre de règles d'utilisation.

Parmi celles-ci :

- minimiser la surface du plan d'ouverture du système de captage enveloppant lors de toute manipulation ;
- maintenir les surfaces aspirantes dégagées ;
- ne pas encombrer le poste de travail en limitant la quantité de produits et le nombre d'instruments au strict nécessaire ;
- refermer hermétiquement les récipients immédiatement après usage ;
- placer les instruments, récipients et prélèvements à l'intérieur de l'enceinte ventilée à plus de 20 cm de son plan d'ouverture ;
- éviter les courants d'air perturbateurs (éviter les gestes brusques, ne pas utiliser de ventilateur d'appoint...);
- nettoyer et ranger le plan de travail en fin d'activité ;
- maintenir les écrans en parfait état de propreté, afin d'assurer une bonne vision ;
- maintenir les écrans de protection fermés, lorsque le poste de travail n'est pas utilisé.

Réception et contrôle des installations de ventilation [42]

La réglementation impose aux employeurs un certain nombre de vérifications périodiques, en plus du contrôle initial qui doit avoir lieu lors de la mise en service (réception) d'une installation de ventilation. Dans le cas

de locaux à pollution spécifique, il s'agit :

- du contrôle annuel du débit global d'air extrait par l'installation ;
- du contrôle annuel des pressions statiques ou des vitesses aux points caractéristiques de l'installation, notamment au niveau des systèmes de captage ;
- de l'examen annuel de l'état de tous les éléments de l'installation (système de captage, gaines, dépoussiéreurs, épurateurs, systèmes d'apport d'air de compensation...).

Chaque modification de l'installation entraînera le renouvellement de ces contrôles.

Ces résultats de mesures doivent être rassemblés dans le dossier d'installation, constitué lors de la réception de l'installation. L'installateur fournit les valeurs de référence (résultats de mesure) qui lui ont permis de vérifier le bon fonctionnement de l'installation.

Synthèse des recommandations

L'ensemble des dispositifs décrits doit être raccordé de telle façon que l'air extrait est rejeté à l'extérieur du bâtiment après traitement, sans recyclage.

TABLEAU SYNTHÉTIQUE DES DISPOSITIFS DE CAPTAGE RECOMMANDÉS AUX POSTES DE TRAVAIL DES LABORATOIRES D'ACP EN PÉRIODE D'ACTIVITÉ

Poste, équipement ou local de travail	Dispositif de ventilation recommandé	Performances aérauliques attendues du dispositif	Commentaires
Table de réception des échantillons	Enceinte ventilée à aspiration frontale	Aucune vitesse inférieure à 0,3 m/s dans le plan d'ouverture de l'enceinte	Salles d'activités techniques maintenues en dépression par rapport aux locaux attenants
Postes de macroscopie, d'immunomarquage, de préparation des réactifs, de coloration manuelle, de montage manuel des lames, de vidange ou de remplissage des bidons, etc.	Sorbonne	Vitesse supérieure ou égale à 0,4 m/s en tout point	
	Enceinte ventilée à aspiration frontale	Vitesse moyenne supérieure ou égale à 0,5 m/s dans le plan d'ouverture de l'enceinte, avec aucune vitesse inférieure à 0,4 m/s	
PSM utilisé pour la macroscopie des pièces fraîches et celle des pièces anatomiques non fixées à cœur	Dispositif de reprise de la totalité de l'air rejeté par le PSM	Débit d'air extrait supérieur au débit d'air sortant du PSM	
Automates d'inclusion, de coloration, de décalcification, d'immunomarquage et de collage des lames	Automate raccordé au réseau de ventilation ou à un conduit de rejet d'air extérieur	Mise en dépression de l'automate par raccordement étanche du conduit de ventilation à l'automate	
	Système de captage positionné en regard de la bouche de rejet d'air de l'automate	Débit d'air extrait supérieur au débit d'air rejeté par l'automate	
	Automate placé dans une enceinte ventilée à aspiration frontale	Vitesse moyenne supérieure ou égale à 0,5 m/s dans le plan d'ouverture de l'enceinte	
Local de stockage	Ventilation générale	4 à 6 renouvellements du volume d'air du local par heure Possibilité de renouveler le volume du local 20 fois par heure en cas de déversement accidentel	Locaux de stockage maintenus en dépression (au moins 10 Pa) par rapport aux locaux attenants
Armoire de stockage	Armoire ventilée	Mise en dépression de l'armoire Circulation de l'air dans l'ensemble de l'armoire, sans zone morte	Locaux de stockage maintenus en dépression (au moins 10 Pa) par rapport aux locaux attenants
Poubelle recevant des déchets souillés par des produits chimiques	Poubelle ventilée	Mise en dépression de la poubelle par raccordement au réseau de ventilation ou mise en dépression du caisson ventilé dans lequel a été placée la poubelle	Poubelle ou caisson ventilé maintenu(e) en dépression par rapport au local de travail

Différents points à identifier dans les propositions technico-commerciales de conception ou de rénovation des laboratoires d'ACP

- Respecter les règles de conception des dispositifs de captage décrits dans le présent guide (le concepteur doit notamment indiquer les vitesses d'air minimales visées).
- Assurer une dépression des locaux à pollution spécifique par rapport aux locaux à pollution non spécifique pour éviter le transfert des polluants vers ces locaux.
- Vérifier que la compensation d'air mécanisée des locaux se fera en « tout air neuf » avec possibilité de mettre en place des récupérateurs d'énergie.
- Concevoir des systèmes de compensation d'air respectant les préconisations du guide (principe de diffusion basse vitesse).
- Prévoir un protocole de réception des installations de ventilation (visualisation des flux d'air par essais au fumigène, suivie de mesures de vitesse...).
- Fournir les documents nécessaires à la constitution du dossier d'installation [42].
- Minimiser les niveaux de bruit des installations de ventilation.

Lexique

DÉFINITION DES TERMES MARQUÉS D'UN ASTÉRISQUE DANS LE TEXTE

Cytocentrifugation	Procédé de préparation des prélèvements liquides afin de séparer et récupérer les cellules qui sédimentent sous l'effet de la force centrifuge.
Cytologie	Étude morphologique des cellules isolées. Ces cellules peuvent être collectées, par exemple, par grattage ou raclage. Elles peuvent aussi être recueillies par cytocentrifugation de liquides émis spontanément ou de liquides de ponction.
Examen anatomopathologique	Étude de l'aspect macroscopique et microscopique des lésions d'un tissu, afin d'établir un diagnostic.
Examen extemporané	Examen anatomopathologique rapide pratiqué sur des pièces non fixées pendant une intervention chirurgicale, afin d'orienter cette dernière (évaluation des limites d'exérèse d'une tumeur...).
Histochimie	Étude de la composition chimique des cellules et des réactions chimiques qui s'y déroulent.
Immunohistochimie	Méthode de révélation <i>in situ</i> de la présence d'antigènes, par réaction antigène-anticorps, dans les cellules d'une coupe de tissus.
Immunomarquage	Marquage d'un antigène au moyen d'un anticorps afin de le localiser dans un tissu.
Prélèvement cytologique	Prélèvement de cellules isolées ou de petits amas cellulaires obtenus par : – recueil des liquides spontanément émis ; – raclage, écouvillonnage, aspiration... ; – ponction ; – apposition d'un tissu sur une lame.
Prélèvement tissulaire	Prélèvement d'un fragment de tissu (biopsie) ou pièce opératoire (exérèse partielle ou complète d'un ou plusieurs organes, séparés ou en monobloc).
Tumorothèque	Collection d'échantillons biologiques obtenus à partir de tissus tumoraux conservés à très basse température. Ces échantillons sont assortis d'annotations biologiques, anatomopathologiques et cliniques.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] *Conception des laboratoires d'analyses biologiques*, INRS, ED 999, 2007.
- [2] *Risque chimique dans les laboratoires de biologie moléculaire*, INRS, TC 81, 2001. Uniquement en pdf sur www.inrs.fr.
- [3] Code de la santé publique, article R. 6211-44.
- [4] *Fiches techniques de cytologie et anatomie pathologique. Pathologie, cytologie et développement*, septembre 2002.
- [5] Marck V., *Manuel de techniques d'anatomo-cytopathologie. Théorie et pratique*, éd. Elsevier Masson SAS, 2010.
- [6] *Valeurs limites d'exposition professionnelle aux agents chimiques en France*, INRS, ED 984, 2012.
- [7] *Le formaldéhyde*, INRS, coll. « Le point des connaissances sur », ED 5032, 2008.
- [8] *Aldéhyde formique et solutions aqueuses*, INRS, coll. « Fiche toxicologique », FT 7, 2011.
- [9] *IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans*, volume 100F, IARC, 2012.
- [10] *Glyoxal et solutions aqueuses*, INRS, coll. « Fiche toxicologique », FT 229, 2005.
- [11] United States National Library of Medicine Hazardous Substances Databank (<http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB>)
- [12] *Phénol*, INRS, coll. « Fiche toxicologique », FT 15, INRS, 2008.
- [13] *Ammoniac et solutions aqueuses*, INRS, coll. « Fiche toxicologique », FT 16, 2007.
- [14] *Hydroxyde de sodium et solutions aqueuses*, INRS, coll. « Fiche toxicologique », FT 20, 2012.
- [15] *Éthanol*, INRS, coll. « Fiche toxicologique », FT 48, 2011.
- [16] *Diméthylsulfoxyde*, INRS, coll. « Fiche toxicologique », FT 137, 2009.
- [17] *Toluène*, INRS, coll. « Fiche toxicologique », FT 74, 2012.
- [18] *Xylènes*, INRS, coll. « Fiche toxicologique », FT 77, 2009.
- [19] *Méthanol*, INRS, coll. « Fiche toxicologique », FT 5, 2009.
- [20] *Oxyde de diéthyle*, INRS, coll. « Fiche toxicologique », FT 10, 2007.
- [21] *Acétone*, INRS, coll. « Fiche toxicologique », FT 3, 2008.
- [22] *Mercurie et composés minéraux*, INRS, coll. « Fiche toxicologique », FT 55, 1997.
- [23] Règlement (CE) modifié n° 1272/2008 du Parlement européen et du Conseil du 16 décembre 2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges, modifiant et abrogeant les directives 67/548/CEE et 1999/45/CE et modifiant le règlement (CE) n° 1907/2006.
- [24] *Dermatoses professionnelles aux résines polyacrylates et polyméthacrylates*, INRS, TA 63, 2001.
- [25] *Les phtalates*, INRS, coll. « Le point des connaissances sur », ED 5010, 2004.
- [26] *Incendie et lieu de travail. Prévention et lutte contre le feu*, INRS, ED 990, 2007.
- [27] *Les mélanges explosifs. 1. Gaz et vapeurs*, INRS, ED 911, 2004.
- [28] *The Merck Index*, Fourteenth Edition (2006), Whitehouse Station, N.J., USA.
- [29] *L'encyclopédie des gaz*, Air liquide, 2013 (<http://encyclopedia.airliquide.com/encyclopedia.asp?LanguageID=2&CountryID=19&Formula=&GasID=5&U-Number=>).
- [30] *Manipulations dans les laboratoires de chimie. Risques et prévention*, ED 953, INRS, 2005.
- [31] *Risques sanitaires liés à l'utilisation de l'azote liquide. Risques liés à l'utilisation de l'azote liquide dans le cadre des activités d'assistance médicale à la procréation. Rapport d'expertise et recommandations*, AFSSET, 2008.
- [32] *Des gants contre les risques chimiques*, INRS, coll. « Fiche pratique de sécurité », ED 112, INRS, 2003.
- [33] *Gants de protection pour les métiers de la santé*, coll. « Fiche pratique de sécurité », ED 118, INRS, 2004.
- [34] *Principes généraux de ventilation*, INRS, coll. « Guide pratique de ventilation », ED 695, 1989.
- [35] *Sorbonnes de laboratoire*, INRS, coll. « Guide pratique de ventilation », ED 795, 2009.
- [36] Arrêté du 16 juillet 2007 fixant les mesures techniques de prévention, notamment de confinement, à mettre en œuvre dans les laboratoires de recherche, d'enseignement, d'analyses, d'anatomie et cytologie pathologiques, les salles d'autopsie et les établissements industriels et agricoles où les travailleurs sont susceptibles d'être exposés à des agents biologiques pathogènes.
- [37] *Postes de sécurité microbiologique. Postes de sécurité cytotoxique. Choix et utilisation*, INRS, ND 2201, 2003.
- [38] NF EN 12469:2000 : « Biotechnologie. Critères de performance pour les postes de sécurité microbiologique ».
- [39] *Le stockage des produits chimiques au laboratoire*, INRS, ED 6015, 2007.
- [40] *Ventilation des espaces confinés*, INRS, coll. « Guide pratique de ventilation », ED 703, 2010.
- [41] *Déchets infectieux. Élimination des DASRI et assimilés. Prévention et réglementation*, INRS, ED 918, 2013.
- [42] *Le dossier d'installation de ventilation*, INRS, coll. « Guide pratique de ventilation », ED 6008, 2007.
- [43] Circulaire DGT 2010/03 du 13 avril 2010 relative au contrôle du risque chimique sur les lieux de travail.
- [44] Circulaire n° DGS/SD5C/DHOS/E2/DRT/CT1/CT2/2004/382 du 30 juillet 2004 relative aux précautions à observer dans les services d'anatomie et cytologie pathologiques, les salles d'autopsie, les chambres mortuaires et les laboratoires de biologie « spécialisés ATNC », vis-à-vis du risque de transmission des agents transmissibles conventionnels (ATC) et non conventionnels (ATNC).
- [45] *Eaux et extraits de Javel. Hypochlorite de sodium en solution*, INRS, coll. « Fiche toxicologique », FT 157, 2006.
- [46] *Asthme professionnel dû aux désinfectants employés en milieu hospitalier*, INRS, TR 27, 2000. Uniquement en pdf sur www.inrs.fr.
- [47] Recommandations de l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé relatives aux critères de choix des procédés de désinfection des surfaces par voie aérienne en milieu de soins, AFSSAPS, 2011.
- [48] Cadiergues R., *MEMOCLIM 2006-1. Le Mémento du Génie Climatique (tome 1)*, SEDIT éditeur, 2006.
- [49] Cadiergues R., *MEMOCLIM 2006-2. Le Mémento du Génie Climatique (tome 2)*, SEDIT éditeur, 2006.
- [50] Site de l'UNECE (United Nations Economic Commission for Europe) http://www.unece.org/fr/trans/danger/publi/adr/adr_f.html.
- [51] *Choisir son véhicule utilitaire léger (VUL)*, INRS, ED 6046, 2009.

Dossiers techniques

Les dossiers techniques proposés dans les pages suivantes présentent des installations de ventilation concrètes, réalisées dans le cadre d'une rénovation ou d'une nouvelle conception de laboratoire. Ils illustrent les recommandations formulées dans le présent guide et soulignent notamment l'importance du confinement des polluants, du traitement de l'intégralité des sources de pollution et de la qualité de la compensation d'air pour la prévention de l'exposition par inhalation du personnel aux agents chimiques dangereux.

Dossier technique 1	Réaménagement d'un laboratoire	34
Dossier technique 2	Conception d'un laboratoire	36
Dossier technique 3	Rénovation d'un laboratoire	38
Dossier technique 4	Mise en place d'une compensation d'air mécanique dans une salle de macroscopie	42
Dossier technique 5	Simulation aéraulique d'une diffusion d'air neuf	44

Dossier technique 1

Réaménagement d'un laboratoire

Contexte

Dans ce laboratoire privé, le risque d'exposition au formaldéhyde a été identifié comme devant être traité en priorité. Des mesures atmosphériques de formaldéhyde ont donc été effectuées. Celles-ci ont montré des niveaux d'exposition supérieurs à $0,9 \text{ mg/m}^3$ (0,75 ppm).

L'activité de macroscopie, activité la plus exposante, est réalisée sur des paillasse équipées à l'arrière de fentes aspirantes. Cette activité, concentrée sur l'après-midi, génère des pics de pollution à l'origine d'irritations des voies respiratoires et de maux de tête.

Solutions retenues

L'entreprise a pour objectif de réduire les expositions au formaldéhyde du personnel.

Pour cela, au-delà du réaménagement des postes de macroscopie, l'ensemble de l'activité a été réorganisé. Une des contraintes à la conception des postes de macroscopie est le souhait de postes très ouverts.

Postes de macroscopie

Le local de macroscopie, isolé des autres locaux, est équipé de quatre postes de travail (dont un dédié au traitement des pièces non fixées) et d'un poste pour le déballage et l'enregistrement des pièces.

Le personnel souhaitant disposer d'un poste de travail très ouvert, le dispositif de captage choisi est constitué d'un dosseret aspirant équipé d'écrans latéraux et supérieur. La vitesse de captage de $0,5 \text{ m/s}$ au point le plus éloigné du dispositif d'aspiration est exigée et la ventilation est dimensionnée pour assurer l'extraction de trois postes en simultané soit $6\,600 \text{ m}^3/\text{h}$.

Coloration

Les colorateurs sont raccordés à l'ancien réseau d'extraction. De plus, le séchage des lames est réalisé sur deux postes ventilés.

Compensation d'air

L'air de compensation est fourni par une centrale de traitement d'air avec système de récupération d'énergie.

Le débit d'air de compensation est asservi au nombre de postes en fonctionnement.

Deux gaines textiles semi-circulaires assurent la diffusion de l'air de compensation.

Résultats

Prélèvements atmosphériques de formaldéhyde

– Niveau d'exposition aux postes de macroscopie : $0,06 \text{ mg/m}^3$ (0,05 ppm)



© Guillaume J. Plisson pour l'INRS

Un poste de macroscopie



© Carsat Rhône-Alpes

Raccordement d'un automate de coloration

- Niveaux d'exposition au poste de macroscopie lors de la coupe de pièces volumineuses: $0,04 \text{ mg/m}^3$ (0,03 ppm) et $0,12 \text{ mg/m}^3$ (0,1 ppm)
- Niveau d'exposition sur 15 minutes lors de la vidange et du rinçage des récipients : $0,32 \text{ mg/m}^3$ (0,25 ppm)
- Concentration ambiante dans le local de macroscopie: $0,02 \text{ mg/m}^3$ (0,02 ppm)

Mesures de niveaux sonores

- Ventilation à l'arrêt : 53dB(A)
- Tous les postes en fonctionnement : 58 dB(A)

Mesures des vitesses d'air au niveau des postes de macroscopie

Les vitesses moyennes de l'air ont été mesurées dans le plan d'ouverture des postes de macroscopie, avec les quatre postes en fonctionnement simultanément.

On obtient les résultats suivants :

- Poste A : 0,47 m/s
- Poste B : 0,51 m/s
- Poste C : 0,85 m/s
- Poste D : 0,55 m/s

Commentaires

- L'introduction des dispositifs de ventilation ainsi que la réorganisation de l'activité (notamment la répartition de l'activité de macroscopie sur la journée de travail) ont permis d'abaisser significativement les niveaux d'exposition au formaldéhyde.
- Une réduction de l'ouverture des postes de macroscopie aurait permis d'améliorer la protection des opérateurs contre les risques de projections liquides, de réduire la sensibilité du dispositif aux éventuels courants d'air et de diminuer les débits d'air mis en œuvre.



© Guillaume J. Plisson pour l'INRS

Une gaine de diffusion d'air dans le local de macroscopie

© Guillaume J. Plisson pour l'INRS



Enceinte ventilée de séchage des lames

© Guillaume J. Plisson pour l'INRS



La centrale de traitement d'air

Dossier technique 2

Conception d'un laboratoire

Contexte

Une dizaine de médecins spécialisés en anatomo-pathologie se sont associés pour faire construire un nouveau laboratoire d'ACP.

Compte tenu de l'activité, le personnel de laboratoire peut être exposé à différents produits dangereux pour la santé, dont le formaldéhyde.

À la conception de ce nouveau bâtiment, une réflexion globale est engagée tant sur le captage à la source des polluants que sur le fonctionnement du laboratoire, les tâches réalisées, les horaires de travail, la compensation de l'air, le chauffage des locaux en hiver et le rafraîchissement en période estivale.

La réalisation de ce projet a duré deux ans. Le nouveau bâtiment comprend trois niveaux, au rez-de-chaussée se trouvent notamment les archives, le local de stockage de produits inflammables et le local à déchets, le premier étage est essentiellement consacré aux laboratoires et le dernier étage aux bureaux.

Installation

Les dispositifs de captage de type sorbonne, table de macroscopie, installés dans les différentes salles sont reliés à une centrale d'extraction.

En complément de ces dispositifs d'extraction, les armoires de stockage des produits chimiques et des prélèvements anatomiques sont ventilées.

Dans chaque laboratoire, la compensation de l'air extrait se fait en « tout air neuf » par un plafond diffusant.

L'installation de ventilation est également conçue de manière à assurer une dépression dans les locaux à pollution spécifique, afin d'éviter la migration de polluants vers des locaux à pollution non spécifique (bureaux, salle de pause...).

Afin de réduire les coûts d'exploitation liés au chauffage ou au rafraîchissement des locaux, la centrale de traitement d'air des locaux techniques est pourvue d'un dispositif de récupération d'énergie.

Résultats

Table de réception

Au niveau de la table de réception des échantillons, les essais au fumigène montrent que les flux d'air sont perpendiculaires à la surface d'ouverture. Toutes les vitesses d'air sont homogènes et supérieures à 0,3 m/s.

Tables macroscopique et sorbonnes

Au niveau des quatre tables macroscopiques et des différentes sorbonnes, les essais au fumigène montrent que les flux d'air sont perpendiculaires aux surfaces d'ouverture. Les vitesses d'air dans les plans d'ouverture sont homogènes et toutes supérieures à 0,5 m/s.

Plafond diffusant

En sortie des plafonds diffusants, les vitesses d'air sont inférieures à 0,3 m/s. Les vitesses d'air résiduelles aux postes de travail ne perturbent pas l'efficacité des dispositifs de captage et n'occasionnent pas d'inconfort thermique pour les opérateurs.



Le local de macroscopie avec l'armoire ventilée transmurale entre la réception et la macroscopie



L'armoire de stockage des prélèvements anatomiques

© Serge Morillon/INRS

© Serge Morillon/INRS

Niveaux d'exposition en polluant

Les prélèvements individuels réalisés au niveau des voies respiratoires des opérateurs et dans l'ambiance des différents laboratoires permettent de conclure à un risque faible d'exposition au formaldéhyde et aux différents solvants (éthanol, xylène, éthylbenzène).

Prélèvements atmosphériques de formaldéhyde

- Niveau d'exposition moyen au poste de réception des pièces: $0,01 \text{ mg/m}^3$ (0,01 ppm)
- Niveau d'exposition moyen aux postes de macroscopie: $0,06 \text{ mg/m}^3$ (0,05 ppm)
- Niveau d'exposition moyen aux postes de biopsie: $0,06 \text{ mg/m}^3$ (0,05 ppm)
- Concentration ambiante dans le local de macroscopie: $0,024 \text{ mg/m}^3$ (0,02 ppm)

Prélèvements atmosphériques de trois solvants en ambiance ou individuel dans les différents locaux

- Éthanol: Concentrations globalement inférieures à $5,7 \text{ mg/m}^3$ (3,0 ppm)
- Xylène: Concentrations globalement inférieures à $8,8 \text{ mg/m}^3$ (2,0 ppm)
- Éthylbenzène: Concentrations globalement inférieures à $0,88 \text{ mg/m}^3$ (0,2 ppm)

© Serge Morillon/INRS



Test au fumigène sur la table de réception

Niveaux sonores ambiants

Des mesures du niveau sonore ont été réalisées dans la salle de macroscopie. Que la ventilation des postes de travail soit à l'arrêt ou en fonctionnement, le niveau sonore respecte les recommandations en matière de prévention de l'exposition au bruit :

- ventilation des 4 postes à l'arrêt et ventilation générale en fonctionnement : 43 dB(A) ;
- tous les postes et la ventilation générale en fonctionnement : 43 dB(A).

Récupérateur d'énergie

En fonctionnement normal, le débit total d'extraction prévu est d'environ $7\,200 \text{ m}^3/\text{h}$ avec un débit de

compensation de $6\,500 \text{ m}^3/\text{h}$; en fonctionnement réduit, les débits théoriques extraits et de compensation sont respectivement de $2\,200$ et $1\,500 \text{ m}^3/\text{h}$.

L'évaluation technique du système de ventilation équipé d'un système de récupération d'énergie à batteries et à circulation d'un mélange eau/glycol a été effectuée sur une période d'environ 6 mois. Quelle que soit la période d'observation, l'échangeur assure une récupération d'énergie aussi bien en chaud qu'en froid et permet de couvrir plus de 35 % des besoins énergétiques nécessaires au réchauffage ou au refroidissement de l'air neuf; ceci correspond à un temps de retour sur investissement inférieur à 5 ans.



© Serge Morillon/INRS

Détail du plafond diffusant

© Serge Morillon/INRS



La centrale de traitement d'air avec récupérateur d'énergie

Dossier technique 3

Rénovation d'un laboratoire

Contexte

Le laboratoire d'anatomie et de cytopathologie est rattaché à un centre hospitalier, il emploie 17 personnes dont 5 médecins.

À l'origine, la salle technique principale de ce laboratoire regroupait la macroscopie et les colorations manuelles et automatiques.

Le poste de macroscopie était constitué d'une table équipée d'une grille d'aspiration intégrée au plan de travail. Le pathologiste et le technicien y travaillaient en se faisant face.

Des mesures de pollution de l'air effectuées dans les locaux du laboratoire

ont mis en évidence des expositions importantes au formaldéhyde et au xylène.

Suite à ces résultats de mesure, le centre hospitalier a décidé de rénover le laboratoire en repensant son organisation et la ventilation des postes de travail.

Installation

Réception des prélèvements

Le local de réception des pièces anatomiques est maintenant équipé d'une enceinte ventilée munie d'un écran rabattable transparent sur sa face avant. Ce poste de travail est dédié à l'ouverture des sachets enveloppant les flacons contenant les pièces anatomiques. Une armoire de stockage transmurale permet d'assurer le transfert des flacons entre le local de réception des pièces et le local de macroscopie. Cette armoire est ventilée et placée en dépression par rapport aux locaux de travail.

Macroscopie

Le local de macroscopie comporte un poste de macroscopie à deux places disposées en côte à côte, un poste de nettoyage des ustensiles, deux appareils de déshydratation et des armoires ventilées pour le stockage des échantillons.

Le poste de macroscopie est constitué d'une enceinte confinée, munie d'un écran rabattable transparent sur sa face avant. L'extrémité du plan de travail comporte un rebord pour éviter les écoulements en cas de renversement accidentel d'un flacon. L'enceinte est ventilée par l'arrière grâce à un dosseret aspirant et par le bas à travers le plan de travail. L'éclairage, installé dans l'enceinte de confinement, est asservi au fonctionnement de la ventilation. Les déchets sont jetés dans une poubelle, à travers une ouverture



© Grégoire Maisonneuve pour l'INRS

Le poste de réception



© Grégoire Maisonneuve pour l'INRS

Le poste de nettoyage



© Grégoire Maisonneuve pour l'INRS

L'armoire de stockage transmurale entre la réception et la macroscopie



© Grégoire Maisonneuve pour l'INRS

Un poste de macroscopie

ménagée dans le plan de travail. Les effluents de l'évier intégré à l'enceinte ventilée sont récupérés dans un bidon équipé d'un dispositif d'alarme antidébordement. La poubelle et le bidon sont placés dans un caisson ventilé situé sous la table de macroscopie.

Le poste de nettoyage est confiné et ventilé par l'arrière. Un bidon de récupération des effluents est situé dans la partie inférieure du meuble qui est également ventilée. Le bidon est muni d'un dispositif d'alarme antidébordement.

Les bouches de rejet d'air des automates de déshydratation sont raccordées au réseau de ventilation centralisé du laboratoire.

Les armoires de stockage sont ventilées et maintenues en dépression par rapport au local de travail. La répartition des grilles de ventilation assure une circulation d'air entre les étagères, sur toute la hauteur de stockage.

Photographie

Le poste de photographie est placé dans une sorbonne avec rejet de l'air extrait à l'extérieur du bâtiment.

Cytopathologie extemporanée

Le local d'analyses cyto-extemporanées est équipé de deux postes de

travail placés dans des enceintes ventilées, similaires à celle du poste de macroscopie, et d'un poste de sécurité microbiologique (PSM).

Inclusion et coupe des blocs

Le local d'inclusion et de découpe des blocs est maintenu en dépression par rapport au couloir d'accès grâce à une bouche de ventilation générale.

Coloration

Les opérations de coloration sont réalisées dans un local dédié, séparé de la salle de macroscopie. Le local de coloration dispose d'enceintes ventilées pour les colorations manuelles, ces enceintes sont similaires à celle du poste



© Grégoire Maisonneuve pour l'INRS

Raccordement des automates de déshydratation et d'inclusion



© Grégoire Maisonneuve pour l'INRS

Armoires de stockage de produits chimiques



© Grégoire Maisonneuve pour l'INRS

Le poste de photographie



© Grégoire Maisonneuve pour l'INRS

Un poste de coloration manuelle

Dossier technique 3

Rénovation d'un laboratoire



© Grégoire Maisonneuve pour l'INRS

La centrale de traitement d'air

de macroscopie. L'air extrait par les deux automates de coloration est rejeté directement dans le local après filtration sur charbon actif. Ce local comporte également un poste de nettoyage confiné et ventilé par l'arrière.

Stockage

Le local de stockage des matières premières et le local à déchets sont indépendants.

Ces deux locaux sont maintenus en dépression par rapport au couloir d'accès grâce à des bouches de ventilation générale.

Compensation d'air dans les locaux

L'apport d'air neuf est assuré par un réseau de ventilation mécanisé équipé

d'une batterie de chauffage. Les débits d'air soufflés sont asservis à la dépression mesurée en continu dans les locaux de travail.

L'air neuf est soufflé à travers des grilles rectangulaires situées au-dessus des postes de travail.

Résultats

Après travaux, des tests fumigènes sont réalisés afin d'évaluer visuellement l'efficacité des dispositifs de captage localisé du laboratoire. À l'exception d'une sorbonne située dans le local de coloration, les dispositifs de ventilation localisée assurent un confinement et un captage satisfaisant des sources de pollution. Les locaux à pollution spécifique sont maintenus en dépression par rapport au couloir central permettant d'accéder aux différents locaux de travail.

Les vitesses d'air mesurées dans le plan d'ouverture des enceintes ventilées satisfont les recommandations du présent guide : elles sont toutes supérieures à 0,3 m/s au poste de réception des échantillons et à 0,5 m/s aux autres postes de travail.

TABLEAU I

Local	Mesure	Après travaux		
		Formaldéhyde mg/m ³ (ppm)	Formaldéhyde mg/m ³ (ppm)	Xylène mg/m ³ (ppm)
Macroscopie	Au niveau des voies respiratoires du médecin	0,4 (0,3)	0,02 (0,02)	Non mesuré
	Au niveau des voies respiratoires de l'assistante du médecin	0,3 (0,2)	0,02 (0,02)	Non mesuré
	Ambiance de travail	0,08 à 0,2 (0,07 à 0,2)	0,01 à 0,02 (0,01 à 0,02)	3,1 (2,4)

De nouvelles mesures de concentration de polluants dans l'air sont effectuées dans les locaux du laboratoire. Les résultats avant et après travaux sont rassemblés dans les *tableaux I et II*.

Suite à la modification des installations de ventilation, l'exposition au formaldéhyde du médecin et de la technicienne du poste de macroscopie a été réduite d'un facteur 10. Dans le même temps, le niveau de pollution au formaldéhyde a également été divisé par un facteur 10 dans l'ambiance de travail du local de macroscopie.

Au poste de coloration manuelle, la concentration en xylène dans l'air a été divisée par un facteur 6 au niveau des voies respiratoires de l'opératrice. Le niveau de pollution résiduel au xylène a également été notablement réduit dans le local de travail.

Commentaires

- Les opérateurs témoignent d'une forte réduction des odeurs de solvant qu'ils percevaient avant la réalisation des travaux.
- Les mesures de concentration des polluants dans le local de macroscopie mettent en évidence un pic d'exposition au formaldéhyde en cas d'ouverture des automates de déshydratation

TABLEAU II

Local	Mesure	Avant travaux		Après travaux
		Xylène mg/m ³ (ppm)	Éthanol mg/m ³ (ppm)	Xylène mg/m ³ (ppm)
Coloration	Au niveau des voies respiratoires de l'opératrice du poste de coloration manuelle	58,7 (13,3)	92,7 (48,4)	8,8 (2,0)
	Ambiance de travail	19,0 à 39,7 (4,3 à 9,0)	11,1 à 28,2 (5,8 à 14,7)	1,3 à 15,9 (0,3 à 3,6)

au milieu de leur cycle de fonctionnement. Cette pratique ponctuelle (quelques secondes à chaque ouverture) expose la technicienne à des concentrations de formaldéhyde dans l'air voisines de 0,14 mg/m³ (0,11 ppm) pondérées sur une durée totale de mesure égale à 40 minutes.

– Dans le local de coloration, une pollution résiduelle persiste, causée par les rejets des deux automates de coloration directement dans ce local. Depuis la fin des travaux, l'entreprise a engagé des actions visant à raccorder la bouche de rejet d'air extrait d'un des automates de coloration vers l'extérieur et elle envisage de supprimer le second automate.

– Les niveaux d'éclairage mesurés sur les plans de travail à l'intérieur des enceintes ventilées sont voisins de 3 000 lux lorsque les éclairages intégrés à ces postes de travail sont en fonctionnement.

– Les niveaux sonores mesurés aux postes de macroscopie et d'analyses cyto-extemporanées sont compris entre 60 dB(A) et 61 dB(A) (sans activité dans le local). Dans le laboratoire de macroscopie, les niveaux sonores les plus élevés sont mesurés à l'aplomb des bouches de soufflage d'air neuf situées à environ 2,2 m du sol. Des phénomènes vibratoires et des vitesses d'air hétérogènes comprises entre 1 et 4 m/s sont observés dans le plan de ces grilles de soufflage. Il est possible de réduire le niveau sonore aux postes de travail en limitant les vitesses d'air à la fois dans les conduits et au niveau des surfaces d'introduction de l'air de compensation. Cette action permettrait aussi d'éviter les courants d'air et leurs conséquences (possible perturbation des dispositifs de captage et inconfort thermique).

Dossier technique 4

Mise en place d'une compensation d'air mécanique dans une salle de macroscopie

Contexte

Ce laboratoire traite des prélèvements anatomiques en provenance de différents établissements de santé.

Sa salle de macroscopie est équipée de deux postes de macroscopie ventilés et accueille également les automates de déshydratation/inclusion. Cette pièce présente une surface de 30 m², soit un volume d'environ 84 m³ (voir photo 1).

Les premiers relevés ont montré que les vitesses moyennes d'air dans les plans d'ouverture des postes de macroscopie étaient inférieures à 0,5 m/s (voir figure 1).

Le local ne disposait alors pas de dispositif de compensation mécanique d'air extrait ce qui provoquait des introductions d'air non maîtrisées (courants d'air perturbant le captage, fenêtres laissées ouvertes...).

Solution retenue

Le laboratoire a décidé de mettre en place une installation de compensation mécanique d'air.

Ce dispositif a pour objectifs de :

- compenser l'air pour une hauteur d'ouverture des postes de macroscopie de 0,26 m, soit un débit maximal de compensation de 2 000 m³/h, avec un asservissement sur le fonctionnement des postes ;
- assurer une légère dépression par rapport au local adjacent ;

- éviter des inconforts thermiques et une perturbation des dispositifs de captage, avec un conditionnement de l'air notamment en période hivernale et des vitesses résiduelles de soufflage inférieures ou égales à 0,20 m/s au niveau des opérateurs et des plans d'ouverture des postes de macroscopie ;
- avoir un niveau sonore inférieur ou égal à 55 dB(A).

Deux centrales de traitements d'air sont placées en toiture (voir photo 2) :

Le débit est variable de 450 à 1 200 m³/h ; la température de soufflage, T_{souff} , est réglée à 20 °C pour une température extérieure, T_{ext} , de -4 °C.

Quatre caissons de soufflage sont installés au plafond (voir photo 3)



© Dominique Leroux pour l'INRS

Photo 1. Les postes de macroscopie

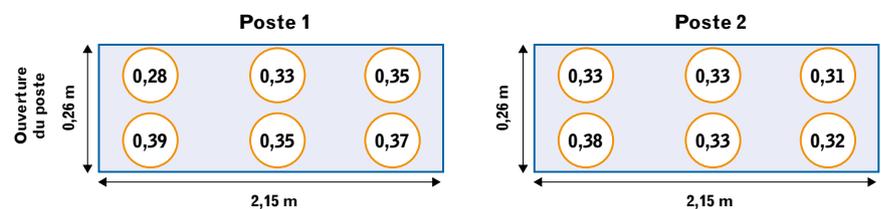


Figure 1. Vitesse moyenne d'air dans les plans d'ouverture

Résultats

Les relevés ont montré que l'installation permet d'assurer un débit total de soufflage de 2 800 m³/h avec un niveau sonore très satisfaisant (< 55 dB(A)).

Avec une température extérieure de 11°C. La température de l'air soufflé était de 20°C.

Les caissons ne génèrent pas d'inconfort thermique avec des vitesses résiduelles faibles.

Le local est en légère dépression par rapport aux locaux adjacents.

Les performances des postes de macroscopie restant insuffisantes,

elles ne permettent toujours pas une protection efficace des utilisateurs surtout avec l'ouverture complète du poste (voir figure 2).

Commentaires

Des actions correctives sont prévues ou envisagées par le laboratoire :

- remplacer les ventilateurs intégrés aux postes par des tourelles d'extraction en toiture adaptées en performances pour atteindre nos recommandations ;
- modifier les caissons d'extraction



© Dominique Leroux pour l'INRS

Photo 3. Caissons d'introduction d'air de compensation en salle de macroscopie

des postes (augmentation des sections d'aspiration) pour limiter les pertes de charge et éviter des niveaux sonores élevés ;

– modifier les systèmes d'ouvertures des postes pour réduire les surfaces ouvertes au strict nécessaire (agir sur la largeur utile) ;

– remplacer les postes par des modèles adaptés à l'activité et ayant de meilleures performances.



© D. Leroux pour l'INRS

Photo 2. Les centrales de traitement d'air

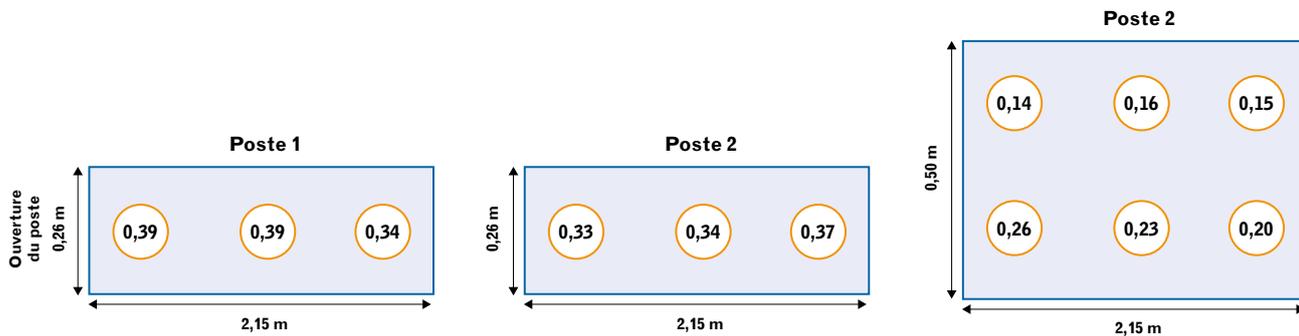


Figure 2. Vitesse moyenne d'air dans les plans d'ouverture après mise en place d'une installation de compensation mécanique d'air

Dossier technique 5

Simulation aéraulique d'une diffusion d'air neuf

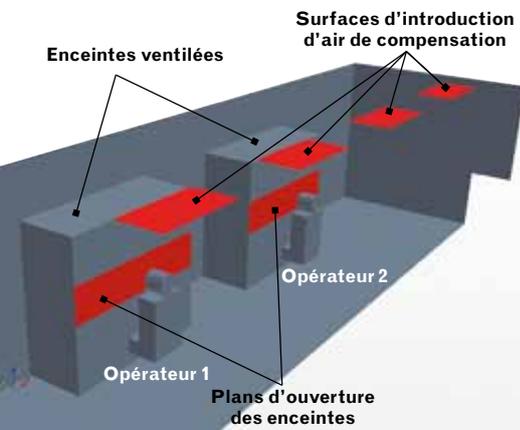


Figure 1. Illustration de la salle

Contexte

Dans le cas d'une salle de macroscopie comportant deux postes ventilés, cinq solutions de compensation d'air ont été simulées afin de juger de leur impact sur les vitesses d'air au niveau des plans d'ouverture des postes de macroscopie ventilés et au niveau des opérateurs (confort thermique).

Conditions de calculs

Deux enceintes ventilées sont installées dans une pièce d'environ 84 m³ (voir figure 1) pour les opérations de macroscopie.

En retenant une vitesse moyenne de 0,5 m/s dans leur plan d'ouverture, le débit total d'extraction est de 3900 m³/h. Température de soufflage 22 °C.

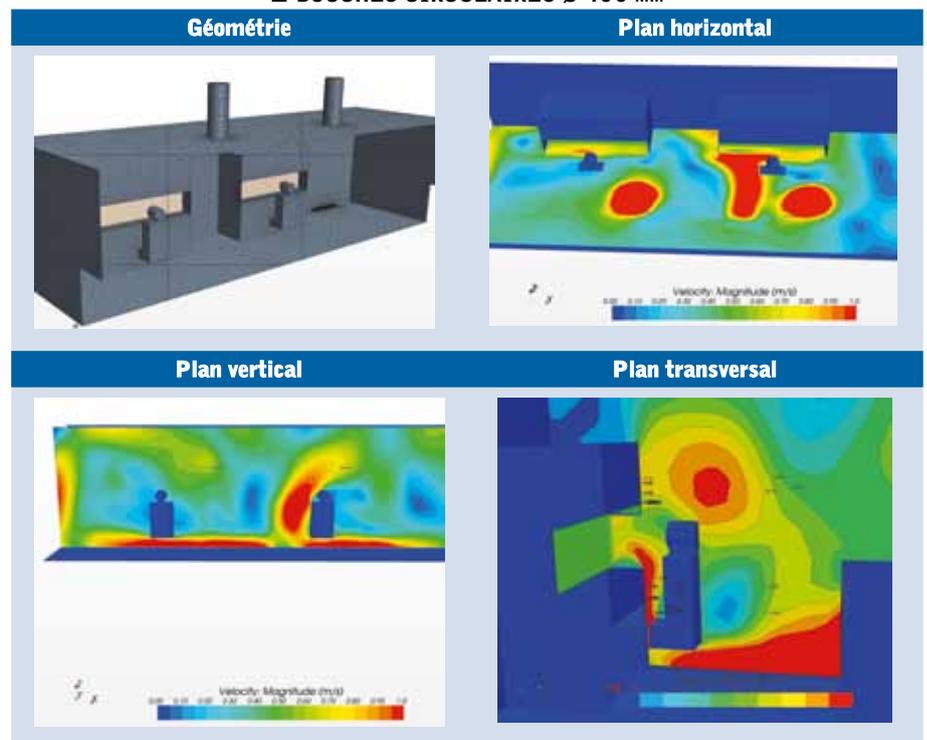
Cinq solutions-types ont été retenues pour les simulations :

- 2 bouches circulaires Ø 400 mm ;
- 3 diffuseurs circulaires à cônes réglables Ø 550 mm ;
- 4 caissons de diffusions basse vitesse (600 x 1 200 mm) ;
- 1 gaine textile en demi-lune à diffusion totale (L = 8,7 m, rayon = 315 mm, porosité = 0,01 ; perméabilité = 453 m³/h sous 120 Pa) ;
- plafond soufflant sur toute sa surface excepté les surfaces des luminaires.

Résultats de calculs

TABLEAU I

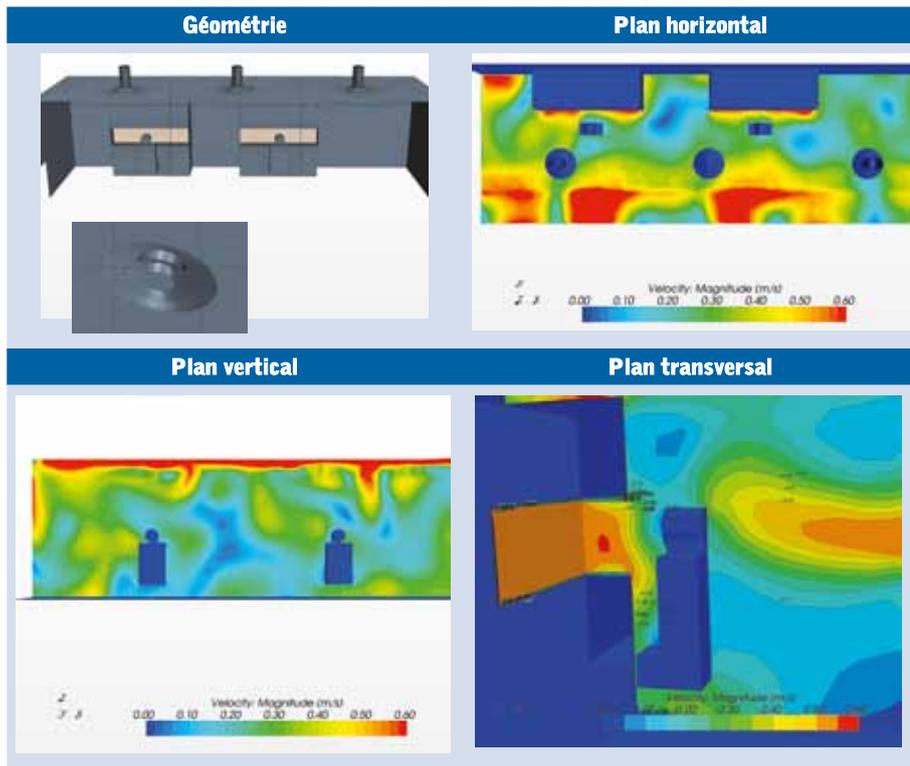
2 BOUCHES CIRCULAIRES Ø 400 MM



**Les mouvements d'air sont importants avec cette solution.
Les vitesses d'air dépassent 0,2 m/s au niveau des utilisateurs des postes.
Des courants d'air perturbent le plan de captage des enceintes.**

TABLEAU II

3 DIFFUSEURS CIRCULAIRES RÉGLABLES Ø 550 MM

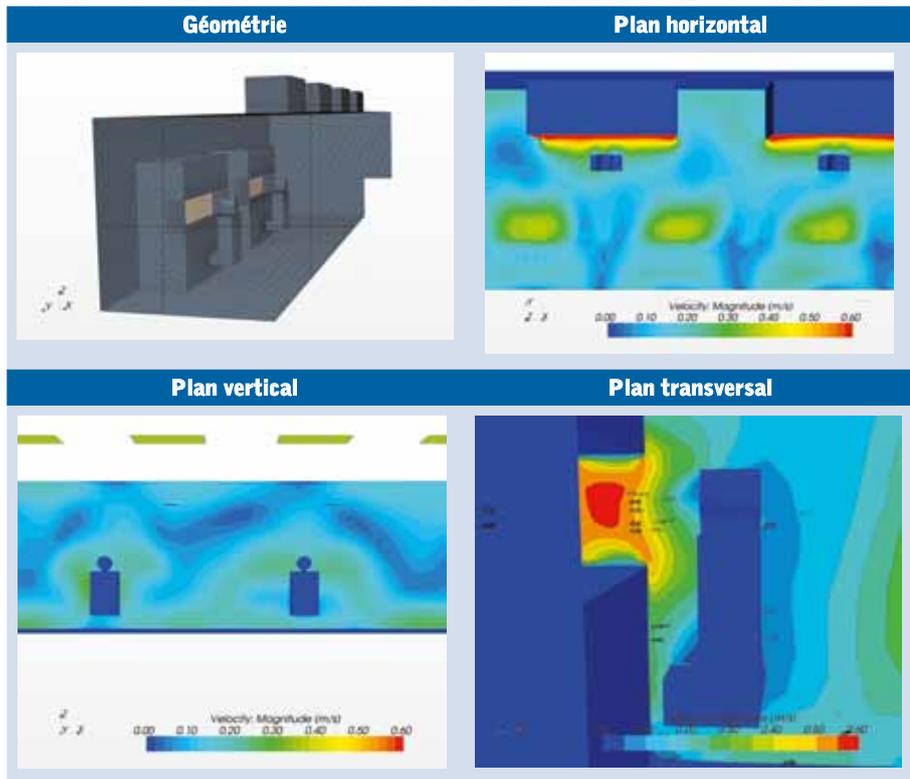


Les mouvements d'air sont importants avec cette solution.
 Les vitesses d'air résiduelles dépassent 0,2 m/s au niveau des utilisateurs des postes.

Des courants d'air perturbent le plan de captage des enceintes.

TABLEAU III

4 CAISSONS DE DIFFUSIONS BASSE VITESSE (GRILLE PERFORÉE – 600 x 1 200 MM)



Les mouvements d'air sont mieux maîtrisés avec cette solution.
 Les vitesses d'air au niveau des utilisateurs des postes sont inférieures ou égales à 0,2 m/s.

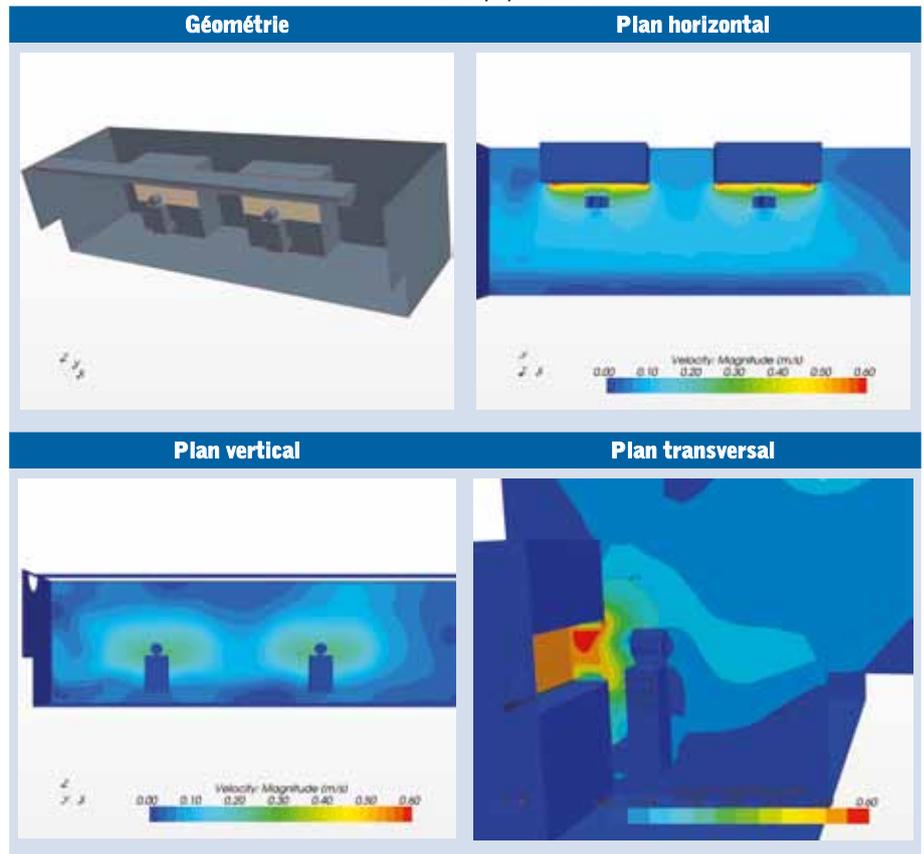
Aucun courant d'air ne vient perturber le plan de captage des enceintes.

Dossier technique 5

Simulation aéraulique d'une diffusion d'air neuf

TABLEAU IV

GAINÉ TEXTILE SEMI-CIRCULAIRE (L = 8,7 M, RAYON = 315 MM, POROSITÉ = 0,01, PERMÉABILITÉ = 453 M³/H/M² SOUS 120 PA)



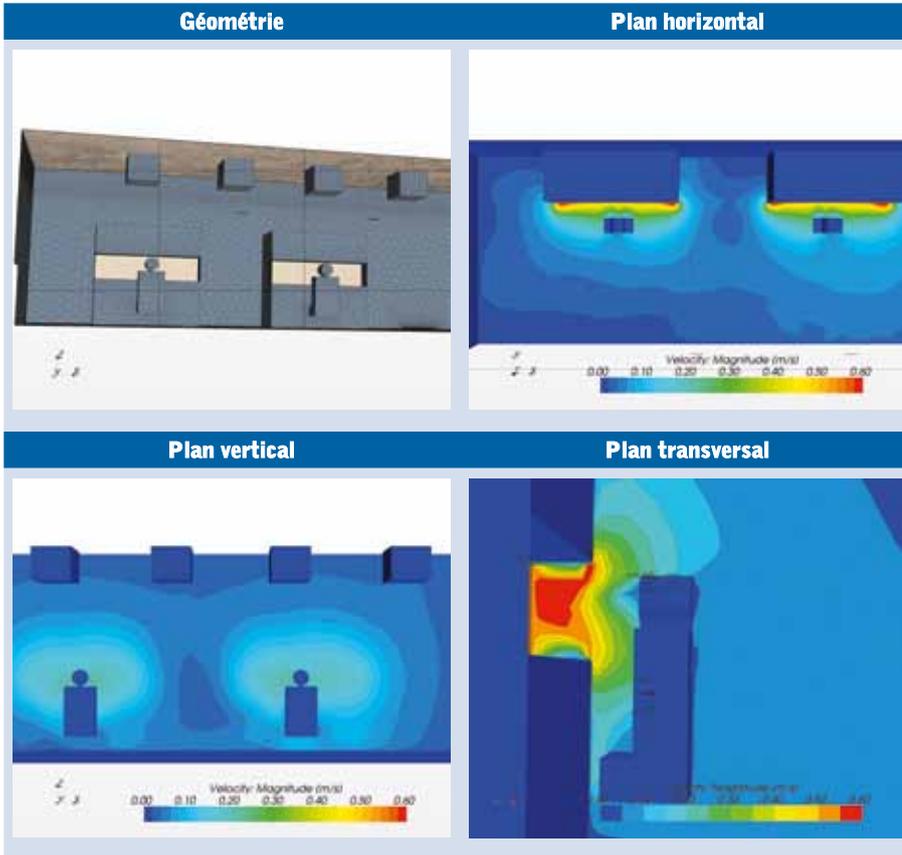
Les mouvements d'air sont bien maîtrisés avec cette solution.

Les vitesses d'air au niveau des utilisateurs des postes sont inférieures à 0,2 m/s et bien plus homogènes qu'avec les solutions précédentes.

Aucun courant d'air ne vient perturber le plan de captage des enceintes.

TABLEAU V

PLAFOND SOUFFLANT SUR TOUTE SA SURFACE EXCEPTÉ LES SURFACES DES LUMINAIRES



Les mouvements d'air sont très bien maîtrisés avec cette solution.

Les vitesses d'air au niveau des utilisateurs des postes sont homogènes et bien inférieures à 0,2 m/s.

C'est la solution qui permet de réduire au minimum les vitesses de déplacement d'air dans la salle.

Aucun courant d'air ne vient perturber le plan de captage des enceintes.



Conclusions

Le *tableau VI* synthétise les résultats des différentes solutions.

Ces différentes simulations permettent de confirmer l'intérêt de la mise en place de solutions de compensation d'air par déplacement d'air avec de la diffusion à très basse vitesse (plafond soufflant, gaine textile et caisson basse vitesse). Les solutions de compensation par des bouches génèrent des vitesses d'introduction élevées et induisent des courants d'air au niveau des postes qui peuvent perturber le captage des enceintes et être source d'inconfort pour les utilisateurs des postes.

TABLEAU VI

Solutions	Évaluation de l'homogénéité des flux d'air (non-perturbation des systèmes de captage) et du confort thermique
Bouches circulaires simples	★
Diffuseurs circulaires réglables	★★
Caisson de diffusions basse vitesse	★★★
Gaine textile en demi-lune à diffusion totale	★★★★
Plafond soufflant	★★★★

Pour obtenir en prêt les audiovisuels et multimédias et pour commander les brochures et les affiches de l'INRS, adressez-vous au service Prévention de votre Carsat, Cram ou CGSS.

Services Prévention des Carsat et des Cram

Carsat ALSACE-MOSELLE

(67 Bas-Rhin)
14 rue Adolphe-Seyboth
CS 10392
67010 Strasbourg cedex
tél. 03 88 14 33 00
fax 03 88 23 54 13
prevention.documentation@carsat-am.fr
www.carsat-alsacemoselle.fr

(57 Moselle)
3 place du Roi-George
BP 31062
57036 Metz cedex 1
tél. 03 87 66 86 22
fax 03 87 55 98 65
www.carsat-alsacemoselle.fr

(68 Haut-Rhin)
11 avenue De-Lattre-de-Tassigny
BP 70488
68018 Colmar cedex
tél. 03 69 45 10 12
www.carsat-alsacemoselle.fr

Carsat AQUITAINE

(24 Dordogne, 33 Gironde,
40 Landes, 47 Lot-et-Garonne,
64 Pyrénées-Atlantiques)
80 avenue de la Jallère
33053 Bordeaux cedex
tél. 05 56 11 64 36
fax 05 57 57 70 04
documentation.prevention@carsat-aquitaine.fr
www.carsat.aquitaine.fr

Carsat AUVERGNE

(03 Allier, 15 Cantal,
43 Haute-Loire,
63 Puy-de-Dôme)
Espace Entreprises
Clermont République
63036 Clermont-Ferrand cedex 9
tél. 04 73 42 70 76
offredoc@carsat-auvergne.fr
www.carsat-auvergne.fr

Carsat BOURGOGNE et FRANCHE-COMTÉ

(21 Côte-d'Or, 25 Doubs,
39 Jura, 58 Nièvre,
70 Haute-Saône,
71 Saône-et-Loire, 89 Yonne,
90 Territoire de Belfort)
ZAE Cap-Nord, 38 rue de Cracovie
21044 Dijon cedex
tél. 03 80 70 51 32
fax 03 80 70 52 89
prevention@carsat-bfc.fr
www.carsat-bfc.fr

Carsat BRETAGNE

(22 Côtes-d'Armor, 29 Finistère,
35 Ille-et-Vilaine, 56 Morbihan)
236 rue de Châteaugiron
35030 Rennes cedex
tél. 02 99 26 74 63
fax 02 99 26 70 48
drpcdi@carsat-bretagne.fr
www.carsat-bretagne.fr

Carsat CENTRE

(18 Cher, 28 Eure-et-Loir, 36 Indre,
37 Indre-et-Loire, 41 Loir-et-Cher, 45 Loiret)
36 rue Xaintraillies
45033 Orléans cedex 1
tél. 02 38 81 50 00
fax 02 38 79 70 29
prev@carsat-centre.fr
www.carsat-centre.fr

Carsat CENTRE-OUEST

(16 Charente, 17 Charente-Maritime,
19 Corrèze, 23 Creuse, 79 Deux-Sèvres,
86 Vienne, 87 Haute-Vienne)
37 avenue du président René-Coty
87048 Limoges cedex
tél. 05 55 45 39 04
fax 05 55 45 71 45
cirp@carsat-centreouest.fr
www.carsat-centreouest.fr

Cram ÎLE-DE-FRANCE

(75 Paris, 77 Seine-et-Marne,
78 Yvelines, 91 Essonne,
92 Hauts-de-Seine, 93 Seine-Saint-Denis,
94 Val-de-Marne, 95 Val-d'Oise)
17-19 place de l'Argonne
75019 Paris
tél. 01 40 05 32 64
fax 01 40 05 38 84
prevention.atmp@cramif.cnamts.fr
www.cramif.fr

Carsat LANGUEDOC-ROUSSILLON

(11 Aude, 30 Gard, 34 Hérault,
48 Lozère, 66 Pyrénées-Orientales)
29 cours Gambetta
34068 Montpellier cedex 2
tél. 04 67 12 95 55
fax 04 67 12 95 56
prevdoc@carsat-lr.fr
www.carsat-lr.fr

Carsat MIDI-PYRÉNÉES

(09 Ariège, 12 Aveyron, 31 Haute-Garonne,
32 Gers, 46 Lot, 65 Hautes-Pyrénées,
81 Tarn, 82 Tarn-et-Garonne)
2 rue Georges-Vivent
31065 Toulouse cedex 9
tél. 0820 904 231 (0,118 €/min)
fax 05 62 14 88 24
doc.prev@carsat-mp.fr
www.carsat-mp.fr

Carsat NORD-EST

(08 Ardennes, 10 Aube, 51 Marne,
52 Haute-Marne, 54 Meurthe-et-Moselle,
55 Meuse, 88 Vosges)
81 à 85 rue de Metz
54073 Nancy cedex
tél. 03 83 34 49 02
fax 03 83 34 48 70
documentation.prevention@carsat-nordest.fr
www.carsat-nordest.fr

Carsat NORD-PICARDIE

(02 Aisne, 59 Nord, 60 Oise,
62 Pas-de-Calais, 80 Somme)
11 allée Vauban
59662 Villeneuve-d'Ascq cedex
tél. 03 20 05 60 28
fax 03 20 05 79 30
bedprevention@carsat-nordpicardie.fr
www.carsat-nordpicardie.fr

Carsat NORMANDIE

(14 Calvados, 27 Eure, 50 Manche,
61 Orne, 76 Seine-Maritime)
Avenue du Grand-Cours, 2022 X
76028 Rouen cedex
tél. 02 35 03 58 22
fax 02 35 03 60 76
prevention@carsat-normandie.fr
www.carsat-normandie.fr

Carsat PAYS DE LA LOIRE

(44 Loire-Atlantique, 49 Maine-et-Loire,
53 Mayenne, 72 Sarthe, 85 Vendée)
2 place de Bretagne
44932 Nantes cedex 9
tél. 02 51 72 84 08
fax 02 51 82 31 62
documentation.rp@carsat-pl.fr
www.carsat-pl.fr

Carsat RHÔNE-ALPES

(01 Ain, 07 Ardèche, 26 Drôme, 38 Isère,
42 Loire, 69 Rhône, 73 Savoie,
74 Haute-Savoie)
26 rue d'Aubigny
69436 Lyon cedex 3
tél. 04 72 91 96 96
fax 04 72 91 97 09
preventionrp@carsat-ra.fr
www.carsat-ra.fr

Carsat SUD-EST

(04 Alpes-de-Haute-Provence,
05 Hautes-Alpes, 06 Alpes-Maritimes,
13 Bouches-du-Rhône, 2A Corse-du-Sud,
2B Haute-Corse, 83 Var, 84 Vaucluse)
35 rue George
13386 Marseille cedex 5
tél. 04 91 85 85 36
fax 04 91 85 75 66
documentation.prevention@carsat-sudest.fr
www.carsat-sudest.fr

Services Prévention des CGSS

CGSS GUADELOUPE

Immeuble CGRR, Rue Paul-Lacavé, 97110 Pointe-à-Pitre
tél. 05 90 21 46 00 – fax 05 90 21 46 13
lina.palmont@cgss-guadeloupe.fr

CGSS GUYANE

Espace Turenne Radamonthe, Route de Raban,
BP 7015, 97307 Cayenne cedex
tél. 05 94 29 83 04 – fax 05 94 29 83 01
prevention-rp@cgss-guyane.fr

CGSS LA RÉUNION

4 boulevard Doret, 97704 Saint-Denis Messag cedex 9
tél. 02 62 90 47 00 – fax 02 62 90 47 01
prevention@cgss-reunion.fr

CGSS MARTINIQUE

Quartier Place-d'Armes, 97210 Le Lamentin cedex 2
tél. 05 96 66 51 31 et 05 96 66 51 32 – fax 05 96 51 81 54
prevention972@cgss-martinique.fr
www.cgss-martinique.fr

COLLECTION DES GUIDES PRATIQUES DE VENTILATION

0. Principes généraux de ventilation	ED 695
1. L'assainissement de l'air des locaux de travail	ED 657
2. Cuves et bains de traitement de surface	ED 651
3. Mise en œuvre manuelle des polyesters stratifiés	ED 665
4. Postes de décochage en fonderie	ED 662
5. Ateliers d'encollage de petits objets (chaussures)	ED 672
6. Captage et traitement des aérosols de fluides de coupe	ED 972
7. Opérations de soudage à l'arc et de coupage	ED 668
8. Espaces confinés	ED 703
9. 1. Cabines d'application par pulvérisation de produits liquides	ED 839
9. 2. Cabines d'application par projection de peintures en poudre	ED 928
9. 3. Pulvérisation de produits liquides. Objets lourds ou encombrants	ED 906
10. Le dossier d'installation de ventilation	ED 6008
11. Sérigraphie	ED 6001
12. Seconde transformation du bois	ED 750
13. Fabrication des accumulateurs au plomb	ED 746
14. Décapage, dessablage, dépolissage au jet libre en cabine	ED 768
15. Réparation des radiateurs automobiles	ED 752
16. Ateliers de fabrication de prothèses dentaires	ED 760
17. Emploi des matériaux pulvérulents	ED 767
18. Sorbonnes de laboratoire	ED 795
19. Usines de dépollution des eaux résiduaires et ouvrages d'assainissement	ED 820
20. Postes d'utilisation manuelle de solvants	ED 6049
21. Ateliers de plasturgie	ED 6146
22. Laboratoires d'anatomie et de cytologie pathologiques	ED 6185



Institut national de recherche et de sécurité
pour la prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles
65, boulevard Richard-Lenoir 75011 Paris • Tél. 01 40 44 30 00
www.inrs.fr • info@inrs.fr

Édition INRS ED 6185

1^{re} édition • octobre 2014 • 3 000 ex. • ISBN 978-2-7389-2144-4

