

GUIDE DE BONNES PRATIQUES DE PREVENTION POUR LES TRAVAUX DE RECHERCHE SUR LES PRIONS

FEVRIER 2022



GUIDE DE BONNES PRATIQUES DE PREVENTION POUR LES TRAVAUX DE RECHERCHE SUR LES PRIONS

FEVRIER 2022

Ce guide de bonnes pratiques a été rédigé par les établissements d'INRAE, du CEA, de l'INSERM, de l'ANSES et du CNRS.

SOMMAIRE

1.	CHAMP D'APPLICATION.....	3
2.	REDUCTION ET EVALUATION DU RISQUE.....	4
3.	RAPPELS SUR LES MODALITES DE CONTAMINATION	4
4.	DISPOSITIONS CONCERNANT LA MANIPULATION DE PRIONS DANS LE CADRE DES ACTIVITES DE RECHERCHE	4
5.	DISPOSITIONS TECHNIQUES.....	5
5.1.	ORGANISATION DE LA SECURITE	5
5.2.	LOCAUX	6
5.3.	QUALIFICATION ET MAINTENANCE DES LOCAUX, PERIODICITE DES CONTROLES	7
5.4.	PERSONNEL.....	8
5.5.	MATERIELS ET EQUIPEMENTS DU LABORATOIRE.....	9
5.6.	EQUIPEMENTS DE PROTECTION INDIVIDUELLE OBLIGATOIRES	10
5.7.	PRECONISATIONS GENERALES.....	11
5.8.	ORGANISATION EN CAS D'URGENCE OU D'ACCIDENT.....	16
5.9.	NETTOYAGE DES LOCAUX, TRAITEMENT DES DÉCHETS ET DES EFFLUENTS	18
5.9.1.	Nettoyage régulier des locaux	18
5.9.2.	Gestion des déchets et des effluents.....	18
5.9.3.	TRANSPORT DES PRELEVEMENTS	20

1. CHAMP D'APPLICATION

Le présent guide fixe la liste des mesures nécessaires en matière de protection et de prévention des risques concernant les laboratoires exerçant des activités de recherche ou de référence sur les Prions.

Ce guide constitue un référentiel à appliquer dans un processus d'évaluation des risques pour être adapté aux spécificités de chaque laboratoire et associé à un processus d'amélioration continue en fonction de la réglementation et des dernières données scientifiques.

La prévention des risques biologiques sur les lieux de travail est définie notamment par les articles R. 4421-1 à R. 4427-5 du code du travail. Les prions appartiennent au groupe 3(*),3(*) (a) ou 2 des agents biologiques¹. A ce titre, les manipulations des échantillons, les analyses et toute opération sur les prions doivent être réalisées dans des installations conformes aux prescriptions minimales de l'arrêté du 16 juillet 2007 modifié fixant les mesures techniques de prévention, notamment de confinement, à mettre en œuvre dans les industries et les laboratoires de recherche et d'enseignement où les travailleurs sont susceptibles d'être exposés à des agents biologiques pathogènes (cf document annexé).

Tableau C de classement des agents de la maladie à prions selon l'arrêté du 16 novembre 2021² fixant la liste des agents biologiques pathogènes.

Agents de la maladie à prions		
Agent biologique	Classement	Remarques
Agent de la maladie de Creutzfeldt-Jakob	3	(*)
Agent de la variante de la maladie de Creutzfeldt-Jakob	3	(*)
Agent de l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) et autres EST animales associées	3	(*), (a)
Agent du syndrome de Gerstman-Sträussler-Scheinker	3	(*)
Agent de Kuru	3	(*)
Agent de la tremblante du mouton	2	

(*) : Accolé à certains agents biologiques pathogènes du groupe 3, cet astérisque indique qu'ils peuvent présenter un risque d'infection limité car ils ne sont normalement pas infectieux par l'air.

(a) : Il n'y a pas de preuve concernant l'existence chez l'homme d'infections dues aux agents responsables d'autres EST animales. Néanmoins, les mesures de confinement des agents classés dans le groupe de risque 3 (*) sont recommandées par précaution pour les travaux en laboratoire, à l'exception des travaux en laboratoire portant sur un agent identifié de tremblante du mouton, pour lequel le niveau de confinement 2 est suffisant.

¹ Arrêté du 16 novembre 2021 fixant la liste des agents biologiques pathogènes pris par le ministère du travail, de l'emploi et de l'insertion, le ministère des solidarités et de la santé et le ministère de l'agriculture et de l'alimentation.

2. REDUCTION ET EVALUATION DU RISQUE

En respect des principes généraux de prévention³, la décision de mettre en œuvre des prions dans le cadre des activités de recherche doit être justifiée.

Ainsi, toute manipulation de prions doit :

- privilégier l'utilisation des souches les moins virulentes,
- limiter le nombre de personnes exposées,
- privilégier les protocoles et les techniques les moins exposants, notamment en limitant la génération d'aérosols et en empêchant leur diffusion,
- empêcher la dissémination des prions dans l'environnement

Le choix entre les techniques pouvant être mises en œuvre est établi sur la base d'une analyse bénéfice-risque argumentée. Elle est tenue à disposition des instances de dialogue social des établissements.

Les manipulateurs doivent envisager la possibilité de traiter, le plus en amont et autant que possible, les échantillons afin de dénaturer les protéines prions et de réduire le titre infectieux, selon des procédés validés, adaptés aux conditions d'utilisation (acide formique, solution de Laemmli...). Ces procédés sont à évaluer périodiquement. L'absence d'inactivation devra être justifiée dans le cadre d'une analyse bénéfice-risque permettant de délivrer une dérogation spécifique.

3. RAPPELS SUR LES MODALITES DE CONTAMINATION

Le classement des agents des maladies à prions est établi sur la base d'un risque d'infection limité car ils ne sont normalement pas transmissibles par voie aérienne. Les voies de contamination principales en milieu professionnel sont les voies cutanées ou oculaires (coupure, piqûre, ou projection).

Cependant, les travaux de recherche ont montré que la nébulisation de prions⁴ peut induire une maladie si la dose inhalée est massive (de l'ordre de celle présente dans un homogénat de cerveau peu ou pas dilué) et l'exposition prolongée. Cette voie d'infection compte toutefois parmi les plus inefficaces des voies d'infection périphérique (40 à 400 fois moins efficace que la voie sous-cutanée).

Compte tenu de ces éléments, les dispositions prises dans les laboratoires de recherche doivent intégrer les mesures de prévention contre les risques de génération et de dissémination d'aérosols.

4. DISPOSITIONS CONCERNANT LA MANIPULATION DE PRIONS DANS LE CADRE DES ACTIVITES DE RECHERCHE

Sur la base des éléments cités précédemment, la manipulation de l'ensemble des prions dans le cadre des activités de recherche est effectuée dans des installations (laboratoires ou animaleries) de niveau de sécurité biologique 3 sans restriction sur les mesures à prendre, prenant en compte l'ensemble des risques de contamination y compris aéroportée.

Les seules dérogations concernent les prions issus de la tremblante chez leur hôte naturel (mouton, chèvre), adaptés au rongeur de laboratoire ou à la souris transgénique pour des PrP de mammifères

³ articles L-4121-1 et L-4121-2 du code du travail

⁴ Haybaeck J, Heikenwalder M, Klevenz B, Schwarz P, Margalith I, et al. (2011) Aerosols Transmit Prions to Immunocompetent and Immunodeficient Mice. *PLoS Pathog* 7(1): e1001257. doi:10.1371/journal.ppat.1001257

autres que bovine, humaine ou primate non-humain. Dans ces seules situations, les manipulations peuvent être réalisées dans un confinement de niveau 2.

Toutes les maladies à prions émergentes et les souches ayant un potentiel zoonotique sont à manipuler en niveau de confinement 3.

Par ailleurs les expériences de passage de barrière d'espèces en animalerie ou conditions de laboratoires doivent être réalisées en niveau 3 car elles sont susceptibles d'accroître la virulence.

5. DISPOSITIONS TECHNIQUES

5.1. ORGANISATION DE LA SECURITE

Les responsabilités en termes de santé et de sécurité au travail doivent être clairement décrites et exposées aux personnes qui en assurent la responsabilité (directeur d'unité...). Une organisation est prévue pour assurer le management prévention des risques professionnels. Les conventions de mixité et de partenariats décrivent en détail le cadre et la délégation de responsabilité et les devoirs de chacune des parties, en particulier les obligations du propriétaire ou de l'exploitant des installations de confinement biologique (hébergeur).

Dans le cas des installations exploitées en mixité, une attention particulière est portée sur la bonne coordination des différents partenaires dans la conception, la réalisation, l'exploitation, l'entretien et la maintenance des infrastructures et des équipements tout au long de leur vie.

Annuellement, un bilan de la situation et des actions entreprises est présentée aux instances de dialogue social des établissements (CHSCT, CSE, CSA, CSSSCT ...).

5.1.1. Référent de la zone de confinement

L'organisation et le pilotage opérationnel de la sécurité relève de l'autorité du directeur de l'unité ou du chef d'installation en fonction des établissements. Ils peuvent se faire assister dans l'exercice de ces missions.

Dans ce cadre, la personne désignée comme référent risque/prévention doit être nommée officiellement afin d'assurer l'exploitation de ces installations et la supervision de la sécurité des personnes amenées à travailler au sein de ces installations.

Cette personne a pour mission principale de :

- Veiller au bon fonctionnement de l'installation,
- Examiner les protocoles de recherche pour s'assurer que les mesures de préventions sont adaptées sans questionner la pertinence scientifique du travail. Définir et faire respecter les conditions d'utilisations des locaux, équipements et matériels mis à disposition.
- Accueillir et habilitier les nouveaux agents et les personnels
- Superviser et vérifier la formation des personnes à la sécurité au poste de travail
- Accompagner (ou coordonner) les équipes dans la résolution des difficultés qu'elles pourraient rencontrer.
- Garantir le respect des règles en interdisant l'accès aux personnes qui y dérogent.

Ces référents bénéficient d'une formation adaptée. Ils sont officiellement désignés par l'autorité compétente de l'établissement et reçoivent une lettre de mission signée par elle.

La procédure prévoyant et décrivant les modalités d'interdiction d'accès aux locaux pour toute personne contrevenant aux règles de sécurité et de santé au travail doit être formalisée.

Le travail isolé est interdit dans le cadre de la manipulation de prions.

5.1.2. Évaluation de la sécurité des protocoles de recherche

Les protocoles et programmes de recherche font l'objet d'une étude préalable à leur mise en œuvre qui permet de décrire les étapes successives de leur réalisation. Pour chaque étape, une évaluation précise des risques pour la santé et la sécurité au travail et une description des mesures de prévention à mettre en œuvre sont réalisées. Ces dispositions s'inscrivent dans les processus de mise à jour du document unique.

Sur la base de cette étude, les protocoles reçoivent une validation formelle par la personne désignée au 5.1.1. ou de préférence par un comité de pilotage et de gestion interne.

5.2. LOCAUX

Les manipulations des échantillons et les analyses doivent être réalisées dans des locaux présentant un niveau de sécurité et de sûreté biologique déterminé après évaluation des risques au poste de travail. Cette évaluation prendra notamment en compte le classement des agents pathogènes.

Toutes les manipulations d'échantillons et les analyses doivent être réalisées dans des locaux dédiés aux activités prions⁵.

La conception et l'exploitation des locaux de confinement biologique répond aux obligations minimales de l'arrêté du 16 juillet 2007 modifié, notamment son annexe V ainsi qu'aux prescriptions édictées par le maître d'ouvrage et l'exploitant des installations. Ces prescriptions techniques, fonctionnelles et organisationnelles sont décidées avec les tutelles des laboratoires. Elles permettent de répondre à l'impératif de qualifications des locaux et équipements critiques tels que décrits au 5.3

Compte tenu des contraintes techniques et de l'enjeu de la protection des agents vis-à-vis de l'exposition au risque prion, la conception des locaux doit bénéficier d'une attention particulière. Afin de garantir la qualité de la conception et la bonne adaptation aux usages, les points suivants sont nécessaires :

- Intervention d'un AMO spécialisé lors de la conception des locaux.
- Validation lors de la conception et lors de la réception avant la mise en service par le représentant du maître d'ouvrage.
- Consultation des usagers sur l'ensemble des phases du projet
- Avis formel du référent biosécurité de l'établissement sur la conception des locaux
- Réception de l'ensemble de l'installation par un bureau de contrôle

⁵ Saisine Anses n° 2010-SA-0157 relatif à la demande d'avis concernant la cohabitation d'analyses de recherche d'agents biologiques de classe 3 et d'ESB

Lors des appels d'offres, il est recommandé de pondérer favorablement la qualité de l'offre technique des candidats par rapport à la proposition financière.

L'intervention de personnel extérieur (entretien, opérations techniques, contrôles) doit impérativement se faire sous le contrôle d'un membre compétent du laboratoire et selon les modalités définies pour l'ensemble des personnels entrant dans le laboratoire (port de blouse, de gants, et de sur-chaussures) ; aucune manipulation d'agent infectieux ne doit être réalisée au sein d'un local concerné par l'intervention pendant sa réalisation ; la rédaction d'un plan de prévention (tel que défini par les articles R-4511-1 et suivants du code du travail) doit être formalisé par écrit pour toute intervention d'une entreprise extérieure dans l'unité concernée.

5.3. QUALIFICATION ET MAINTENANCE DES LOCAUX, PERIODICITE DES CONTROLES

La démarche de qualification s'inscrit dans un processus documenté orienté vers la sécurité et la sûreté biologiques. Le processus de qualification a pour but de démontrer que le fonctionnement de l'installation, tel qu'il est opéré, repose sur un mode opératoire adaptée au risque et que les mesures de sécurité et de sûreté biologiques sont efficaces et permettent d'atteindre les résultats attendus.

Les locaux, les équipements et matériels critiques, les procédés relatifs aux activités sur les prions sont soumis à un processus de qualification qui donnent lieu à une certification de type « assurance qualité ».

La personne en charge de l'installation, citée au 5.1.1 tient à jour une liste des équipements, matériels et consommables critiques.

Les locaux, les équipements et le matériel sont nettoyés, entretenus et décontaminés le cas échéant selon des procédures documentées détaillées.

Au terme du processus, le résultat des qualifications des systèmes est prononcé par la production d'un rapport de qualification documenté.

Le rapport de qualification est daté et signé par la personne citée au 5.1.1. Ce rapport est tenu à la disposition notamment des utilisateurs, des autorités d'inspection ou de contrôle.

Les opérations nécessaires au démantèlement des locaux, équipements et installations à l'issue de l'activité font l'objet d'une formalisation d'un plan de retrait accompagné d'une évaluation du coût financier de l'opération.

5.4. PERSONNEL

5.4.1. Traçabilité et surveillance médicale

Le laboratoire doit enregistrer la liste nominative de toutes les personnes intervenant dans le processus de réalisation des travaux, y compris le personnel scientifique assurant l'encadrement des activités, en indiquant de surcroît leur niveau de qualification.

Les personnels travaillant avec des prions font l'objet d'une visite médicale préalable aux manipulations. Leurs activités sont soumises à une obligation de traçabilité individuelle, indiquant les souches manipulées et les conditions dans lesquelles elles ont été utilisées (cahier de laboratoire et/ou procédure opératoire). Cette traçabilité est communiquée en particulier aux médecins du travail et aux services RH compétents.

Ce personnel fait l'objet d'un suivi médical renforcé dans le cadre de la médecine de prévention ou du travail.

Un livret individuel (voir annexe 2) est constitué pour chaque agent. Il a pour objectif d'assurer la traçabilité :

- des formations et de l'habilitation reçues ;
- des souches manipulées et des conditions de leur manipulation ;
- de la surveillance médicale délivrée ;
- des accidents et incidents d'exposition et des mesures prises (voir chapitre 5.8).

Ce livret est alimenté tout au long de la carrière de l'agent et transmis aux différents employeurs successifs. Il comporte un visa du directeur de l'unité et les avis du médecin du travail compétent.

5.4.2. Formation des utilisateurs

Chaque laboratoire établit son programme d'accueil et de formation des personnels amenés à manipuler les prions ou à intervenir en laboratoire de confinement (personnels technique, scientifique et de maintenance). Cette formation est dispensée sous l'autorité de la personne désignée au 5.1.1 en lien avec des préventeurs et des utilisateurs expérimentés dans les manipulations ou les techniques à mettre en œuvre et les équipements à utiliser.

La durée de cette formation doit permettre aux agents de bénéficier de l'ensemble des connaissances et compétences nécessaires afin d'occuper le poste de travail ou leur intervention en toute sécurité.

Cette formation intègre une forme de tutorat. Une validation des acquis doit être mise en place et complétée par une autoévaluation de la part de l'agent formé.

Les agents en contrat de travail à durée déterminée bénéficient d'un encadrement et d'une formation renforcés.

Les personnels ainsi formés reçoivent une habilitation d'accès au laboratoire de confinement et à la manipulation des prions. Un bilan est organisé à l'issue d'une période d'essai afin de valider les compétences acquises, de dresser un retour d'expérience. L'habilitation est délivrée pour une durée limitée. Cette habilitation peut être suspendue à tout moment en cas de manquement.

Les compétences et les connaissances des personnels sont vérifiées régulièrement et remises à niveau le cas échéant au moins annuellement.

Une remise à niveau systématique a lieu à échéance de l'habilitation.

Les attestations de formation figurent dans le livret individuel et la liste des personnes habilités doivent être actualisées régulièrement par le référent risques/prévention et disponibles en tant que de besoin.

La liste nominative des agents habilités est communiquée aux médecins du travail des établissements partenaires de l'unité de recherche ainsi qu'aux services ressources humaines des établissements.

5.5. MATERIELS ET EQUIPEMENTS DU LABORATOIRE

Tous les matériels et équipements doivent être totalement dédiés à la réalisation des activités sur les prions. Leur maintenance et leur entretien courant sont réalisés dans les locaux réservés dans le respect des procédures de sécurité des personnes et de l'environnement.

Les petits matériels et les consommables utilisés sont préférentiellement à usage unique. En outre, les matériels piquants ou coupants font l'objet d'une réflexion pour les remplacer, ils ne peuvent être utilisés qu'en l'absence de solution alternative répondant aux objectifs du travail envisagé

Des collecteurs pour perforants sont utilisés pour les objets piquants, tranchants ou coupants. Ils doivent être disposés dans l'espace de travail.

Les prélèvements et reliquats d'homogénats testés doivent être clairement identifiés et stockés dans un lieu ou un équipement à accès sécurisé (congélateurs).

5.6. EQUIPEMENTS DE PROTECTION INDIVIDUELLE OBLIGATOIRES

Dans les laboratoires de niveau de sécurité biologique 2, le niveau de protection minimal du manipulateur est le suivant :

Vêtement de travail	Gants ou protection cutanée	Protection oculaire	Masque respiratoire	Autres équipements
Blouse totalement couvrante, Sarrau ou casaque avec fermeture arrière (1)	Double paire de gants normés EN ISO 374-5 Gants anticoupure limitant les risques de piqûre* EN 388 : 2016	Lunettes de sécurité (ou écran facial*) EN 166	FFP2* NF EN149+A1	Surchausses, Manchettes*, Tablier*

(1) Éventuellement complétée du port d'une charlotte.

Dans les laboratoires de niveau de sécurité biologique 3, le niveau de protection minimal du manipulateur est le suivant :

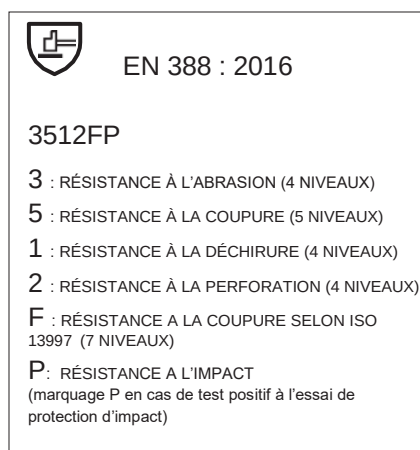
Vêtement de travail	Gants ou protection cutanée	Protection oculaire	Masque respiratoire	Autres équipements
Combinaison intégrale (2) à usage unique EN 14126	Double paire de gants normés EN ISO 374-5 Gants anticoupure limitant les risques de piqûre* EN 388 : 2016	Lunettes de sécurité (ou écran facial*) EN 166	FFP2 ou FFP3* NF EN149+A1	Surchausses, Manchettes Tablier*

(2) Assurant une protection intégrale du corps et de la tête

* Sur certains postes de travail en fonction des mesures décrites dans le paragraphe ci-dessous.

Les normes citées sont celles en vigueur à la date de rédaction du document. Il convient de prendre en compte les dernières normes en vigueur.

Marquage des gants selon la norme EN 388 : 2016



Le marquage des gants EN 388 est accompagné de 4 chiffres suivi de 2 lettres (voir figure ci-contre).

Plus le chiffre ou la lettre est élevé, meilleur est la performance vis-à-vis du critère. Les lettres viennent compléter l'information

Une croix signifie que le gant n'est pas adapté au risque identifié.

Dans le cas des laboratoires concernés par ce guide, la résistance à la coupure doit être au minimum de 4.

Concernant les risques de pique, la seule norme EN 388 n'étant pas adaptée aux risques de piquer dû à l'usage d'aiguille, il convient de se référer à la norme ANSI / ISEA 105. Le niveau de performance selon cette norme doit être au minimum de 4.

La procédure d'accès entrée-sortie du laboratoire est spécifiquement documentée. Elle décrit en détail les différentes étapes pour s'équiper / se déséquiper des protections individuelles en tenant compte de la configuration des locaux. Elle décrit également les modalités du renouvellement et de la mise en déchets des équipements ainsi que de leur entretien pour les matériels réutilisables.

La mise en œuvre pratique de cette procédure fait partie intégrante de la formation reçue par chaque agent.

Pour les personnes ayant besoin de lunettes correctrices, la mise à disposition d'écrans faciaux, de visières à usage unique ou de lunettes de protection correctrices est recommandée.

5.7. PRECONISATIONS GENERALES

Dans le cadre des recherches sur les prions, l'évaluation des risques de chaque opération doit être réalisée en amont des manipulations.

Plusieurs opérations peuvent néanmoins présenter des risques importants de piqûre, de coupure, de projection ou de génération d'aérosol. Pour ces opérations à risques, des mesures spécifiques de prévention sont présentées dans les paragraphes suivants.

Il convient aussi de rappeler que les conditions de travail et les règles de bonnes pratiques en laboratoire de confinement sont de nature à prévenir la génération des aérosols ou la contamination des surfaces de travail (par exemple : utilisation d'un PSM, rotors de centrifugeuse étanches...)

Afin de prévenir les risques de piqûres ou de coupures, une veille active relative à l'usage des gants anti-coupure et anti-piqûre est exercée par les laboratoires.

Le cas échéant, ces mesures doivent être intégrées dans le document unique d'évaluation des risques de l'unité.

5.7.1. Autopsies

Les opérateurs habilités sont formés au geste (suivi de compétence tracée)

a. Autopsies de corps humains et grands animaux

Risque : piqure ou coupure, projection, aérosols

Lors de l'autopsie, il est recommandé de prédécouper de la manière la plus précise possible les échantillons afin de limiter l'usage des objets piquants coupants ou tranchants à cette phase de travail.

En complément des EPI de base, les opérateurs portent des gants anti-coupure, des manchettes et un tablier en plastique, une visière de protection par-dessus les lunettes de sécurité.

En complément des équipements de protection collective sont installés tels que des tables aspirantes, bras d'aspiration ou tout autre EPC ventilé adapté à la situation. Les outils de découpe à grande vitesse tels que les scies circulaires sont munis de dispositif d'aspiration intégrés.

Les ovins et bovins sont autopsiés par gravité, les manipulateurs portent en complément des EPI une blouse et des gants de velours.

b. Autopsies de petits animaux (hamsters, souris)

Risque : piqure ou coupure, projection

Lors de l'autopsie, il est recommandé de prédécouper de la manière la plus précise possible les échantillons afin de limiter l'usage des objets piquants coupants ou tranchants à cette phase de travail.

En complément des EPI prévus en A3, les opérateurs portent un masque à visière ou un masque et des lunettes de protection adaptées au risque de projection.

Le port de gants anti coupure adaptés fera l'objet d'une évaluation bénéfice risque.

Le travail est réalisé sous PSM.

Les scalpels et matériels coupants utilisés sont de type « à bout rond ».

Des ciseaux chirurgicaux à usage unique sont utilisés lors de ces manipulations.

5.7.2. Découpe d'échantillons après autopsie

Risque : piqure ou coupure, projection

Lors de l'autopsie, il est recommandé de prédécouper de la manière la plus précise possible les échantillons afin de limiter l'usage des objets piquants coupants ou tranchants à cette phase de travail.

Les découpes ultérieures sont réalisées autant que possible à l'aide de couteaux en plastique ou a minima avec des scalpels à bouts ronds jetables sous poste de sécurité microbiologique.

Les opérateurs utilisent des pinces plates afin de maintenir les échantillons et portent une double paire de gants de protection en latex ou nitrile avec intercalés des gants anti-coupure.

Ces opérations peuvent générer un risque d'exposition à des vapeurs de produits chimiques, notamment de formol. Une vérification de l'exposition professionnelle est réalisée au poste de travail. Le cas échéant, des mesures compensatoires sont mises en œuvre afin de protéger les agents.

5.7.3. Homogénéisation mécanique des tissus (Ribolyse)

Risque : projection, aérosols

L'utilisation d'un ribolyseur est à privilégier afin d'éviter la diffusion des aérosols dans le laboratoire. Celui-ci doit être muni d'un couvercle avec hublot ou transparent permettant de contrôler visuellement l'intégrité des tubes.

Si l'opération n'est pas exécutée dans un ribolyseur, elle doit être réalisée en tube fermé sous PSM. Dans ce cas, le risque de détérioration des performances du PSM doivent être prises en compte.

En cas de constat de casse d'un tube avant ouverture, le cas échéant les EPI doivent être renforcés avant de réaliser l'ouverture et de procéder à une décontamination de l'enceinte (masque FFP3 requis en particulier).

5.7.4. Sonication et amplification

Risque : Projection, Aérosols

Les opérations de sonication doivent être faites dans des tubes fermés.

Dans tous les cas, lorsque c'est possible techniquement, les équipements d'amplification (PMCA, RT-QuiC...) et de sonication sont placés sous poste de sécurité microbiologique de type 2. La vérification périodique du poste de sécurité microbiologique doit être effectuée en présence des équipements.

Si les équipements d'amplification (PMCA, RT-QuiC...) sont trop volumineux pour être placés sous poste de sécurité microbiologique, ils seront munis de dispositifs de sécurité intrinsèque (par ex : tubes à joints toriques assurant l'étanchéité aux liquides et à l'air, eau en circuit fermé vidangée régulièrement, etc) interdisant l'échappement d'aérosols. Des couvercles adaptés ou, à défaut un film plastique sont mis en place autant que nécessaire afin de prévenir les risques de projections.

Toute ouverture des tubes est réalisée sous poste de sécurité microbiologique.

5.7.5. Centrifugation et ultracentrifugation

Risque : Aérosols, Bris de tubes

Durant les centrifugations les nacelles et le rotor angulaire sont fermés à l'aide d'un couvercle hermétique et étanche selon les cas.

Les fermetures et ouvertures ne sont réalisées que sous PSM.

5.7.6. Inclusion des échantillons en paraffine

Risque : projection, produits chimiques

Les échantillons doivent faire l'objet d'un traitement adapté afin de diminuer le caractère infectieux préalablement à l'inclusion.

Les inclusions sont réalisées autant que possible à l'aide d'automates pour les bains de solvants (xylène, éthanol). Si ce n'est pas possible, une protection individuelle de type masque à cartouche A2B2P3 est requise lors de l'ouverture des bacs pour le trempage ou la sortie des échantillons. Dans tous les cas, les bacs sont munis de couvercles étanches afin de limiter l'évaporation des solvants durant toutes les opérations ou la manipulation des échantillons n'est pas nécessaire.

Des gants adaptés sont utilisés lors de l'usage de pinces chauffantes.

Les blocs de paraffine préparés sont ébavurés à l'aide d'un couteau à bout rond.

5.7.7. Coupe de blocs de paraffine

Risque : piqure ou coupure,

L'opération est réalisée avec en plus des EPI de base, une paire de gants anti-coupure. La mise en place et le retrait de la lame s'effectue à l'aide d'une pince ou d'un aimant.

Les rubans de paraffine et les résidus de découpe sont récupérés à l'aide d'objets non piquants (pinceaux, cure dents en bois par exemple). Les résidus de découpe sont évacués en DASRI. Des tapis adhésifs au sol permettent de faciliter la récupération des paillettes et des chutes de découpe.

En cas d'usage d'aspirateur celui-ci est muni d'un filtre HEPA.

Les microtomes sont munis de protection anti-coupure et sont positionnés dans des zones dédiées.

Pour rappel : l'usage de microtome automatique ou semi-automatique est à privilégier afin de prévenir les risques de TMS.

5.7.8. Coupe de tissus frais au cryostat

Risque : piqure ou coupure,

Les coupes de tissus frais au cryostat doivent être réduites autant que possible et faire l'objet d'une évaluation risque bénéfice au cas par cas.

Les échantillons doivent faire l'objet d'un traitement adapté afin de diminuer le caractère infectieux préalablement à la congélation.

La coupe des tissus est réalisée avec en plus des EPI de base, une paire de gants anti-coupure adapté au froid. La mise en place et le retrait de la lame s'effectue à l'aide d'un aimant.

Les résidus de découpe sont récupérés à l'aide d'objets non piquants après un temps de décongélation (pince à bout rond par exemple). Les résidus de découpe sont évacués en DASRI.

Les cryostats sont munis de protection anti-coupure et sont positionnés dans des zones dédiées.

Pour rappel : l'usage de cryo-microtome automatique ou semi-automatique est à privilégier afin de prévenir les risques de TMS.

5.7.9. Inoculations de prions à un animal

Les opérateurs habilités sont formés au geste (suivi de compétence tracée). Les inoculations sont réalisées sur animal anesthésié sauf pour les inoculations par voie orale qui sont réalisées sur animal vigile.

L'assistance d'un second manipulateur est nécessaire afin de maintenir la vigilance de l'opérateur durant cette étape à risque.

Pour les petits animaux, les inoculations devront se faire dans tous les cas où c'est possible sous PSM de type 2

a. Inoculations par voie orale

Risque : projection

Les opérateurs portent une visière faciale de protection en complément des EPI nécessaires pour travailler en laboratoire de confinement. L'opération est réalisée sur un animal vigile, maintenu en contention.

b. Inoculations par voie intraveineuse et voie intra péritonéale

Risque : pique ou coupure

L'usage d'aiguilles sécurisées (munies de dispositifs rétractables ou à capuchons par exemple) fait l'objet d'une évaluation bénéfice-risque en lien avec l'usage, Le port de gants anti-pique fait l'objet d'une évaluation bénéfice-risque.

c. Inoculations par voie intracérébrale

Risque : pique ou coupure

L'usage d'aiguilles sécurisées (munies de dispositifs rétractables ou à capuchons par exemple) fait l'objet d'une évaluation bénéfice-risque en lien avec l'activité,

Il est fortement recommandé de recourir à un dispositif d'assistance et de contention permettant de réduire le risque de pique.

L'usage d'un appareil de stéréotaxie peut répondre à cette nécessité. Il est dans ce cas couplé à des opérations de fraisage crânien préalable et à l'utilisation de seringue à bout non biseauté (type Hamilton).

Ces opérations particulièrement à risque font l'objet d'une réflexion active et d'une veille permanente quant aux matériels et méthodes de contention utilisables.

5.7.10. Soins aux animaux, zootechnie

Risque : piqure ou coupure, projection, morsures

Les opérateurs habilités sont formés au geste (suivi de compétence tracée).
La manipulation des petits animaux avec des pinces plates et/ou avec des gants anti-morsures est recommandée.

5.7.11. Mise en contact de prions infectieux d'origine humaine ou animale dans le milieu de culture organotypique, de cellules humaines ou animales

Risque : projection

Les manipulations en milieu organotypique permettent de réduire l'utilisation d'animaux et de supprimer certaines étapes à risque.
Dans tous les cas, ces opérations sont réalisées sous poste de sécurité microbiologique de type 2.

5.7.12. Analyse de protéines

Risque : projection, produits chimiques

Ces opérations sont réalisées dans une salle dédiée afin de prévenir le risque chimique. L'analyse de protéines peut s'effectuer en L1 après dénaturation des protéines (chauffage en milieu Laemmli). Le port de lunettes de protection reste nécessaire.

Dans tous les cas, les déchets issus de ces opérations doivent être évacués en DASRI.

5.7.13. Analyse de tissus (Coupe d'histologie incluse en paraffine)

Risque : piqure ou coupure

Les lames d'histologie scellées, traitées avec des procédés validés (voir paragraphe suivant) peuvent être observées sous microscope en dehors du laboratoire de confinement. Elles peuvent être archivées à condition d'être clairement identifiées en tant que lame « prions ». En cas de bris de la lame d'histologie, l'échantillon infectieux se retrouve exposé et la lame peut représenter un risque de coupure. La lame doit alors être décontaminée puis évacuée en DASRI. La surface environnante doit être décontaminée. En cas de coupure, l'opérateur doit suivre les protocoles de décontamination adaptés.

5.8. ORGANISATION EN CAS D'URGENCE OU D'ACCIDENT

d. Formation des sauveteurs-secouristes du travail

Compte tenu des risques et de l'importance d'une réactivité immédiate en cas d'accident, les agents intervenants régulièrement dans les laboratoires de confinement doivent être formés aux gestes de premiers secours. La formation dispensée doit intégrer les spécificités liées au confinement.

Les médecins du travail sont associés à la formation des sauveteurs-secouristes du travail intervenant dans les laboratoires manipulant des prions afin de compléter leur formation par des connaissances spécifiques au risque prions.

e. Accident sur personne et gestion des premiers soins⁶

Un kit d'urgence doit être présent dans l'espace de la zone dédiée aux activités techniques. Il contient a minima :

- Les consignes d'utilisation.
- Une solution savonneuse.
- De l'eau distillée.
- Une solution d'hypochlorite de sodium à 2 % de chlore actif préparée depuis moins de 24 h.
- Un récipient pour récupérer les eaux de lavage et de rinçage.
- Des compresses.
- Une tenue de rechange.

La solution mère et la dilution d'hypochlorite de sodium à 2 % de chlore actif doivent comporter la date de péremption.

Contact ou projection sur un EPI en cours de manipulation

- Traiter la zone souillée en absorbant le liquide avec un papier imbibé d'une solution d'hypochlorite de sodium à 2 % de chlore actif.
- Changer immédiatement et intégralement les EPI souillés et les placer en DASRI.
- S'assurer que les vêtements personnels ne sont pas touchés.
- Se rééquiper dans le SAS d'habillage.

Projection sur la peau/piqûre/coupure/morsures

- Laver immédiatement au savon, rincer à l'eau
- Immerger ou assurer un contact pendant au moins 5 min exclusivement avec une solution d'hypochlorite de sodium à 2 % de chlore actif.
- Si douleur, arrêter le traitement.
- Rincer à l'eau.

Projection oculaire ou sur muqueuses

- Laver avec au moins 250 ml de sérum physiologique si possible à l'aide d'un rince-œil à usage unique ou à défaut à l'eau du laboratoire.

Secours à une victime inconsciente

- Le dégagement d'urgence d'une personne inconsciente dans le laboratoire de confinement fait l'objet d'une procédure documentée.
- Dans le cadre d'un secours à une victime, le sauveteur-secouriste du travail (SST) utilise les équipements de protection individuelle d'un kit d'urgence disponible

⁶ Instruction DGS/RI3/2011/449 du 1er décembre 2011 relative à la réduction des risques de transmission d'ATNC lors des actes invasifs.

- dans le sas (combinaison intégrale, paires de gants, masque FFP3 et lunettes de protection).
- À la sortie, le SST retire les EPI et les laisse dans le SAS. La procédure prévoira les conditions de décontamination ultérieure du SAS.

Dans tous les cas, solliciter la chaîne de secours le plus rapidement possible.

Faire une déclaration d'accident du travail sous 48 heures, puis informer les professionnels de la prévention. Les circonstances de l'accident doivent être analysées dans un but de prévention avec tous les éléments de traçabilité : modèle expérimental, souche, nature du traumatisme, évaluation aussi précise que possible de l'exposition possible à du matériel infectieux, etc.

f. Évacuation des agents en cas d'urgence

L'évacuation des agents en cas d'urgence fait l'objet d'une procédure documentée et se fait en lien avec les services de secours. Les personnels travaillant dans le laboratoire doivent être instruits des règles de sortie du laboratoire en cas d'urgence. Leurs connaissances et leurs compétences sont maintenues dans le temps par la mise en place d'exercices d'évacuation réguliers.

g. Renversement accidentel d'un matériel biologique infectieux

En cas de renversement d'un matériel biologique infectieux (inoculum, cerveau...) :

- En cas de renversement d'une quantité importante de liquide, évacuer le local le temps de permettre un renouvellement d'air suffisant pour diminuer la quantité d'aérosols.
- Rassembler le liquide à l'aide de papiers absorbants à usage unique en évitant d'étaler le liquide ou à l'aide de toute autre matière absorbante.
- Nettoyer la surface contaminée avec un détergent puis décontaminer avec une solution d'hypochlorite de sodium à 2 % de chlore actif pendant 1 heure (papier imbibé de la solution de décontamination).
- Rincer à l'eau la surface traitée.
- Les papiers absorbants, gants et flacons sont placés directement dans un sac autoclavable puis mis dans un fut DASRI.

5.9. NETTOYAGE DES LOCAUX, TRAITEMENT DES DÉCHETS ET DES EFFLUENTS

5.9.1. Nettoyage régulier des locaux

Dans la mesure où les méthodes standards de désinfection ne peuvent assurer une complète efficacité sur les prions, les locaux doivent faire l'objet d'un nettoyage/désinfection régulier et tracé, selon une procédure adaptée.

5.9.2. Gestion des déchets et des effluents

Il est rappelé de privilégier l'utilisation de dispositifs à usage unique en plastique.

Le laboratoire, en lien avec l'hébergeur, doit élaborer et mettre en place des procédures adaptées pour la collecte, le traitement et l'élimination des déchets solides et liquides et des

effluents éventuels. Ces protocoles doivent notamment respecter les règles de sécurité particulières préconisées ci-dessous et, le cas échéant, celles des autorités sanitaires locales.

a) Collecte des DASRI

Les déchets solides (emballages, outils piquants, coupants ou tranchants, microtubes, pointes de pipette, EPI, litières...) doivent être collectés dans des emballages homologués pour les DASRI.

Les déchets anatomiques humains (non reconnaissables) et les déchets issus d'animaux sont entreposés dans des températures comprises entre 0 °C et 5 °C avant inactivation et élimination par la filière DASRI. Les déchets issus d'animaux doivent faire l'objet d'une autorisation spécifique auprès de la DDPP.

Les objets piquants, coupants ou tranchants doivent être strictement conditionnés dans des conteneurs homologués pour une élimination par la filière DASRI.

Les déchets liquides sont collectés dans des bidons homologués pour les DASRI liquides. Ces déchets peuvent être gélifiés.

b) Inactivation des DASRI

Les méthodes classiques de décontamination ne sont pas efficaces sur les agents des maladies à prions. En pratique, les procédés utilisables assurant une inactivation totale sont :

Traitement thermique

Le standard du traitement thermique par autoclavage est de 134 °C pendant 18 min minimum⁷.

Quel que soit le niveau de confinement des manipulations, les autoclaves utilisés doivent répondre aux spécifications techniques pour le traitement des déchets à risques infectieux.

Traitement chimique

- Immersion dans une solution d'hypochlorite de sodium à la concentration finale de 2 % de chlore actif pendant au moins une heure à température ambiante.

Ou

- Immersion dans une solution de soude molaire (1 N) pendant au moins une heure à température ambiante.

Les opérations d'inactivation des déchets sont réalisées sur place. Les procédés d'inactivation doivent être validés.

c) Entreposage et élimination des DASRI

Une fois inactivés, les déchets sont entreposés dans des emballages et conteneurs homologués pour les DASRI dans des locaux dédiés sur une durée maximale définie par la réglementation selon la quantité de déchets produits⁸.

Les DASRI sont évacués par un transporteur et éliminés par incinération dans un centre de traitement selon les réglementations en vigueur.

⁷ Instruction DGS/RI3/2011/449 du 1er décembre 2011 relative à la réduction des risques de transmission d'ATNC lors des actes invasifs.

⁸ Arrêté du 7 septembre 1999 relatif aux modalités d'entreposage des déchets d'activités de soins à risques infectieux et assimilés et des pièces anatomiques

Un bordereau de suivi de l'élimination des DASRI doit être établi et archivé.

d) Cas particulier des effluents

On entend par effluents les eaux usées qui n'ont pas été directement en contact avec des agents biologiques pathogènes ou des prélèvements biologiques et dont les volumes produits ne permettent pas une élimination selon la filière DASRI déchets liquides.

Inactivation des effluents

- Traitement thermique par autoclavage selon la méthode standard (voir ci-dessus).
- Traitement chimique par inactivation des effluents pendant une nuit dans des réservoirs étanches remplis pour moitié de soude 2 N (concentration finale 1 N).

Élimination des effluents

Les effluents évacués dans les réseaux d'assainissement font l'objet d'une convention de déversement.

- Les effluents traités par autoclavage sont évacués dans le réseau d'assainissement.
- Les effluents traités à la soude doivent être éliminés à travers les stations de traitement des effluents en place dans le laboratoire.

Aucun effluent non traité ne doit être évacué par les systèmes de collecte des eaux usées.

e) Cas particulier des gros animaux

Les cadavres de gros animaux sont traités in situ par incinération.

5.9.3. TRANSPORT DES PRELEVEMENTS

Les échantillons biologiques, sont considérés, pour leur transport, comme des marchandises dangereuses.

Dans le cadre d'un envoi ou d'un transport, à l'exception de ceux dont on sait qu'ils ne contiennent pas d'agents pathogènes, les échantillons biologiques appartiennent à la classe 6.2 « matières infectieuses ». Le laboratoire est responsable du respect des prescriptions réglementaires (ADR par route, IATA par voie aérienne) applicables à cette classe pour le transport des échantillons entre le lieu de prélèvement et le laboratoire.

Le transport est effectué dans des conteneurs répondant aux normes réglementaires de sécurité, équipés de systèmes de fermeture définitive. Ces dispositifs doivent garantir que les conteneurs n'ont pas été ouverts entre le moment de leur fermeture au lieu de prélèvement et celui de leur ouverture par le personnel du laboratoire.

Ce document a été rédigé par un groupe de travail composé de :

Sylvie Ben-Slama, Chargée de mission aux risques biologiques, INSERM
Béatrice Bié, médecin du travail coordonnatrice, INSERM
Emilien Broussal, conseiller national prévention ANSES
David Caffier, délégué sécurité biologique, INRAE
Anne-Marie Casanoue, médecin coordonnateur MESRI
Marie-France Delauw, chargée de mission INSB - Section 27, CNRS
Benoit Doremus, médecin du travail, ANSES
Yves Fenech, coordonnateur national de prévention et de sécurité, CNRS
Philippe Hoest, chargé de mission aux risques biologiques INSB, CNRS
Naïma Hoffmann, médecin du travail coordonnatrice, INRAE
Alexandra Leiterer, ingénieure en prévention des risques professionnels, CEA
Philippe Marianneau, référent national sécurité et sûreté biologiques Santé Animale, INRAE
Sabrina Molet, conseillère prévention, INRAE
Simone Munch, médecin coordonnatrice nationale adjointe de médecine de prévention, CNRS
Jean-François Munoz, référent national biosécurité, ANSES
Ferid Nassor, chargé d'affaires cellule qualité-sécurité-environnement, CEA
Stéphane Nicolas, chargé de mission risques biologiques, CNRS
Etienne Pelletier, conseiller national prévention, INSERM
David Savy, conseiller national prévention, INRAE
Arnauld Vasseur, médecin coordonnateur national de médecine de prévention, CNRS

Les rédactrices et les rédacteurs remercient les inspectrices et les inspecteurs de l'inspection générale de l'enseignement supérieur et de la recherche et du conseil général de l'alimentation, de l'agriculture et des espaces ruraux pour leurs commentaires et leurs propositions d'enrichissement du document.

ANNEXE 1

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

Version en vigueur depuis le 04 août 2007

MESURES DE CONFINEMENT DANS LES SALLES dédiées aux activités techniques	NIVEAUX DE CONFINEMENT		
	2	3	4
a) Conception			
1. Accès via un sas muni de portes asservies ne pouvant pas s'ouvrir simultanément.	Non	Oui	Oui
2. Possibilité de fermer hermétiquement la salle dédiée aux activités techniques pour permettre la désinfection.	Optionnel	Oui	Oui
3. Filtration de l'air entrant de la salle dédiée aux activités techniques (filtre HEPA).	Non	Oui	Oui
4. Filtration de l'air extrait dans la salle dédiée aux activités techniques (filtre HEPA).	Non	Oui	Oui, double filtre HEPA
5. Fenêtres fermées pendant la manipulation.	Oui	Oui, hermétiquement closes	Oui, hermétiquement closes et incassables
6. Maintien d'une pression négative dans la salle dédiée aux activités techniques par rapport aux zones voisines.	Non	Oui	Oui
7. Système d'alarme pour détecter tout changement anormal de la pression de l'air.	Non	Oui	Oui
8. Approvisionnement en énergie électrique de secours.	Non	Optionnel	Oui
9. Système de ventilation de secours.	Non	Optionnel	Oui

b) Aménagements internes			
1. Présence d'au moins un poste de sécurité microbiologique.	Oui	Oui	Oui
2. Vêtements de protection.	Oui	Oui	Oui. Change complet avant l'entrée et la sortie de la salle dédiée aux activités techniques
3. Surfaces imperméables à l'eau, résistantes aux agents de nettoyage et de désinfection sans endroits inaccessibles au nettoyage.	Oui : sols et murs (1)	Oui: sols, murs et plafonds	Oui: sols, murs et plafonds
4. Présence d'une douche.	Non	Optionnel. Si oui, à proximité de la salle dédiée aux activités techniques	Oui. Douche de décontamination entre la salle dédiée aux activités techniques et le sas d'habillage du scaphandre
5. Présence d'un autoclave.	Optionnel. Si oui, facilement accessible et, si possible, dans le bâtiment	Oui, dans la salle dédiée aux activités techniques, à double entrée ou à proximité immédiate (2)	Oui, dans la salle dédiée aux activités techniques, double entrée
6. Cages, moyens de contention, procédures d'euthanasie appropriés aux espèces animales.	Oui	Oui	Oui

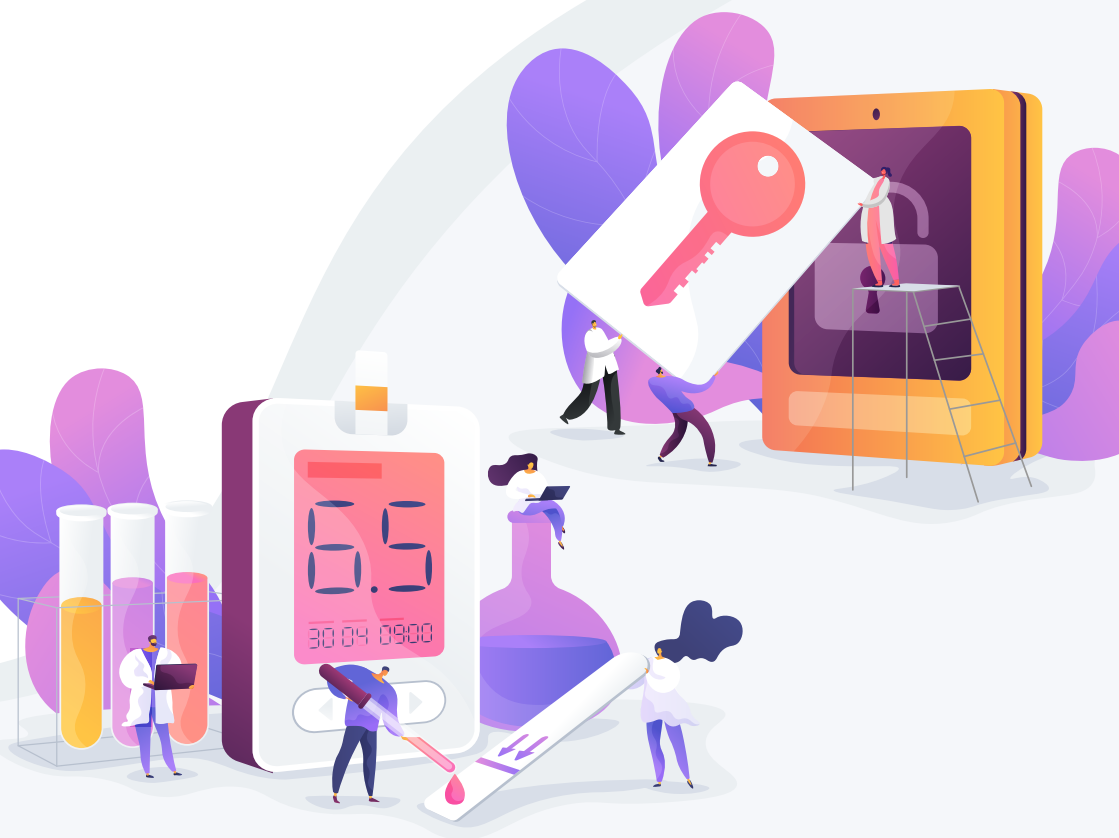
c) Pratiques opératoires			
1. Stockage des agents biologiques dans un lieu sécurisé.	Oui	Oui	Oui
2. Manipulation des matières infectées et de tout animal contaminé dans un système approprié de confinement (3).	Oui	Oui	Oui
3. Inactivation des déchets.	Optionnel, avant leur sortie de l'établissement	Oui, avant leur sortie de l'établissement	Oui, avant leur sortie de la salle dédiée aux activités techniques
4. Inactivation des agents biologiques dans les effluents par des moyens appropriés.	Optionnel	Oui	Oui
Oui : exigence. Non : pas d'exigence. Optionnel : doit être décidé, au cas par cas, sur la base de l'évaluation des risques, à la suite de laquelle ces mesures devront - ou non - être appliquées.			

- (1) Pour les installations existantes, cette exigence est applicable au plus tard deux ans après la publication du présent arrêté.
- (2) Mise en place de procédures validées, permettant le transfert vers un autoclave extérieur au local, conférant la même protection et contrôlées dans leur déroulement.
- (3) Lorsque des animaux de laboratoire sont délibérément contaminés par un ou plusieurs agents biologiques pathogènes, ils doivent être manipulés ou hébergés dans des locaux répondant aux exigences de confinement requis du fait de la classification du ou des agents pathogènes utilisés.

ANNEXE 2

PASSEPORT D'ACCES AU LABORATOIRE DE CONFINEMENT

PASSEPORT D'ACCÈS À UN CONFINEMENT DE NIVEAU 3



SOMMAIRE

INTRODUCTION	4
VIE DU PASSEPORT	5
RÔLE ET MISSION DU RÉFÉRENT L3	6
FICHE UTILISATEUR	7
FICHE RISQUE BIOLOGIQUE	8
FICHE RISQUE CHIMIQUE	10
FICHE ÉQUIPEMENTS PARTAGÉS	10
FICHE VISITE MÉDICALE	11
FICHE FORMATION	12
FICHE ACCÈS AU L3	15

Rédaction : Edra Antony-Francis, Elora Antony-Francis, Meriem Kadri, Lydie Lefrançois, Dr Myriam Bouselham, Sylvie Ben Slama - Avec la contribution de Valérie Dessirier, Cécile Couriaud, Magali Torres - Réalisation : Audrey Peloni (MoM/DRH) - Credits images : Adobe Stock ©Visual Generation - Février 2021

INTRODUCTION

Le passeport d'accès à un laboratoire de confinement de niveau 3 est un livret personnel. Il vous permet d'appréhender le travail en installation de confinement en toute sécurité. Pour le renseigner, vous serez accompagné par le référent de confinement ou le responsable de la zone.

Vous aurez ainsi un suivi en terme de prévention des risques mais également médical.

Après avoir identifié les risques auxquels vous pourriez être exposés à votre poste de travail, une formation vous sera délivrée par le référent du L3 ou le responsable de la zone de confinement.

Il est important, en cas de modifications du projet de recherche (des pathogènes manipulés ou autres) de réactualiser le livret ainsi que la visite médicale.

Attention, vous ne pourrez avoir accès au L3 qu'à partir du moment où le passeport sera correctement rempli, validé, signé par toutes les parties (référent, encadrant, directeur d'unité et agent) et que vous aurez eu un avis du médecin du travail.

Si présence d'un comité de pilotage sur site :

Email du comité ou du représentant du comité :

Téléphone :

»»» VIE DU PASSEPORT



Un personnel de l'unité doit manipuler dans le L3



La personne se rapproche du référent de confinement

➤ *Acquisition du Passeport L3 individuel*



L'unité organise avec l'employeur le rendez-vous avec le médecin du travail
Convocation de l'agent à la visite médicale
➤ *Prenez/communiquez votre passeport L3*

Le médecin du travail émet un avis médical
➤ *Absence de contre-indication médicale*



Formation de la personne par le référent de confinement
➤ *Suivi du passeport individuel L3*



L'accès au L3 est autorisé
➤ *Passeport L3 individuel signé*

RÔLES ET MISSIONS DU RÉFÉRENT

Nom :

Prénom :

Téléphone :

Email :

Le référent de confinement de niveau 3 est responsable du bon déroulement des activités mettant en œuvre des agents biologiques hautement pathogènes pour l'homme ou l'animal.

Son rôle est de :

- Maîtriser les techniques d'exploitation des locaux de confinement de niveau 3 ;
- Connaître la réglementation relative au risque biologique ;
- Évaluer les risques liés à l'activité ;
- Veiller à l'application et au respect des règles de santé et de sécurité au travail par tous les utilisateurs y compris les entreprises extérieures ;
- Signaler tout incident, accident ou dysfonctionnement au responsable de la structure, et l'inscrire dans le Registre de Santé et Sécurité au Travail (RSST) ;
- Participer à la mise en place du plan d'urgence interne permettant de garantir la sécurité et la sûreté biologique du laboratoire ;
- Veiller à l'entretien et à la conformité des locaux et des équipements.

Ses missions sont de :

- Mettre en place les procédures d'accès, de travail, d'entretien des locaux, de décontamination, de gestion des déchets et assurer leur suivi ;
- Réaliser l'accueil et la formation des nouveaux utilisateurs : procédure d'entrée / sortie, port des EPI, procédures de travail, fonctionnement des équipements, information sur les risques, conduite à tenir en cas d'accident, évacuation... ;
- Instaurer et faire respecter les bonnes pratiques de laboratoire ;
- Assurer le suivi des opérations de contrôle réglementaire et de maintenance des équipements et des installations ;
- Coordonner les interventions des entreprises extérieures.

IDENTIFICATION DE L'UTILISATEUR

** A remplir avec le référent L3 ou le responsable de la zone*

Nom	
Prénom	
Email	
Telephone	
Employeur (tutelle)	
Statut	☐ Doctorant ☐ Post doctorant ☐ CDD ☐ Statutaire ☐ Autre
Unité de recherche	
Equipe ou service	
Nom de l'encadrant	
Expériences antérieures en L3	Formations : ☐ Oui ☐ Non Si oui précisez la date : _____ Durée : _____ Travail réalisé (ex : type de microorganisme, OGM) : _____
Description succincte du projet	
Fréquence d'utilisation envisagée	

Date :

**Signature du référent ou
du responsable de zone :**



* A cocher avec le référent L3 ou le responsable de la zone

1 - Prélèvement d'origine humaine : ☐ Oui ☐ Non		
Décrivez lesquels		
Sérotypés	☐ Oui ☐ Non	<i>Précisez</i>
2 - Cellules humaines : ☐ Oui ☐ Non		
Cultures primaires	☐ Oui ☐ Non	<i>Précisez</i>
Lignées commercialisées	☐ Oui ☐ Non	<i>Précisez</i>
Autres	☐ Oui ☐ Non	<i>Précisez</i>
3 - Prélèvement d'origine animale : ☐ Oui ☐ Non		
Espèces		
Organes	☐ Oui ☐ Non	<i>Précisez</i>
Cellules	☐ Oui ☐ Non	<i>Précisez</i>
4 - OGM : ☐ Oui ☐ Non		Type d'insert
Type de vecteur		
▪ Lentivirus	☐ Oui ☐ Non	☐ A ☐ B
▪ Retrovirus	☐ Oui ☐ Non	☐ A ☐ B
▪ Adenovirus	☐ Oui ☐ Non	☐ A ☐ B
▪ AAV	☐ Oui ☐ Non	☐ A ☐ B
▪ HSV	☐ Oui ☐ Non	☐ A ☐ B
▪ Autres	☐ Oui ☐ Non	☐ A ☐ B
	☐ Oui ☐ Non	☐ A ☐ B
	☐ Oui ☐ Non	☐ A ☐ B

**5 - Microorganismes : ☐Oui ☐Non**

	Présent dans le L3 (coactivité)	Je manipule dans le L3	Précisez la nature (qu'ils soient présents ou manipulés)
Virus	☐ Oui ☐ Non	☐ Oui ☐ Non	
Bactéries	☐ Oui ☐ Non	☐ Oui ☐ Non	
Champignons	☐ Oui ☐ Non	☐ Oui ☐ Non	
Parasites	☐ Oui ☐ Non	☐ Oui ☐ Non	

6 - Prions : ☐Oui ☐Non

	Présent dans le L3 (coactivité)	Je manipule dans le L3	
Précisez	☐ Oui ☐ Non	☐ Oui ☐ Non	

7 - Piquants / Coupants : ☐Oui ☐Non

Précisez	
----------	--

Date :**Signature du référent ou
du responsable de zone :**



FICHE RISQUE CHIMIQUE



*** A cocher avec le référent L3 ou le responsable de la zone**

Utilisation de produits chimiques			
	Présent dans le L3 (coactivité)	Je manipule dans le L3	Précisez la nature (qu'ils soient présents ou manipulés)
CMR (cancérogènes, mutagènes, reprotoxiques)	☐ Oui ☐ Non	☐ Oui ☐ Non	
Cytotoxiques	☐ Oui ☐ Non	☐ Oui ☐ Non	
Autres (Inflammables, toxiques aigus...)	☐ Oui ☐ Non	☐ Oui ☐ Non	



UTILISATION D'ÉQUIPEMENTS PARTAGÉS

*** A cocher avec le référent L3 ou le responsable de la zone**

Equipements		
Cytomètre en flux	☐ Oui ☐ Non	Précisez
Centrifugeuse	☐ Oui ☐ Non	Précisez
PSM type II	☐ Oui ☐ Non	Précisez
Autoclave (exige une habilitation)	☐ Oui ☐ Non	Précisez
Etuve CO ₂	☐ Oui ☐ Non	Précisez
Autres	☐ Oui ☐ Non ☐ Oui ☐ Non ☐ Oui ☐ Non	Précisez

Date :

Signature du référent ou
du responsable de zone :

»» SUIVI MÉDICAL POUR L'ACCÈS AU L₃

Ce passeport est à communiquer à votre médecin du travail avant l'entrée dans un laboratoire de confinement de niveau 3. Le suivi médical se fait tous les deux ans.

Il est important d'informer votre médecin du travail en cas de modification des expérimentations.

INSÉRER LA FICHE
DE VISITE MÉDICALE



GÉNÉRALES		
Réalisée par :		Signature :
Date :		
Règles d'entrée-sortie	☐ Oui ☐ Non	<i>Précisez, documentation et consignes transmises (guide, procédure.....)</i>
E.P.I	☐ Oui ☐ Non	<i>Précisez, documentation et consignes transmises (guide, procédure.....)</i>
Conduite A Tenir en cas d'accident (CAT)	☐ Oui ☐ Non	<i>Précisez, documentation et consignes transmises (guide, procédure.....)</i>
Transport échantillons	☐ Oui ☐ Non	<i>Précisez, documentation et consignes transmises (guide, procédure.....)</i>



RISQUE BIOLOGIQUE		
Réalisée par :		Signature :
Date :		
Formation NEO	☐ Oui ☐ Non	<i>Précisez, documentation et consignes transmises (guide, procédure.....)</i>
Accident Exposant au Sang (AES)	☐ Oui ☐ Non	<i>Précisez, documentation et consignes transmises (guide, procédure.....)</i>
Gestion des DASRI	☐ Oui ☐ Non	<i>Précisez, documentation et consignes transmises (guide, procédure.....)</i>



RISQUE CHIMIQUE		
Réalisée par :		Signature :
Date :		
Formation NEO	☐ Oui ☐ Non	<i>Précisez, documentation et consignes transmises (guide, procédure.....)</i>
Gestion des déchets chimiques	☐ Oui ☐ Non	<i>Précisez, documentation et consignes transmises (guide, procédure.....)</i>
Déversement accidentel d'un produit	☐ Oui ☐ Non	<i>Précisez, documentation et consignes transmises (guide, procédure.....)</i>



RISQUES Incendie/Secours		
Réalisée par :		Signature :
Date :		
Formation NEO	☐ Oui ☐ Non	<i>Précisez, documentation et consignes transmises (guide, procédure.....)</i>
Formation incendie (extincteur)	☐ Oui ☐ Non	<i>Précisez, documentation et consignes transmises (guide, procédure.....)</i>
Gestes premiers secours	☐ Oui ☐ Non	<i>Précisez, documentation et consignes transmises (guide, procédure.....)</i>
Evacuation d'urgence / Malaise	☐ Oui ☐ Non	<i>Précisez, documentation et consignes transmises (guide, procédure.....)</i>



ÉQUIPEMENTS		
Cytomètre en flux	☐ Oui ☐ Non concerné	<i>Précisez, documentation et consignes transmises (guide, procédure.....)</i>
Nom : _____ Date : _____ Signature : _____		
Centrifugeuse	☐ Oui ☐ Non concerné	<i>Précisez, documentation et consignes transmises (guide, procédure.....)</i>
Nom : _____ Date : _____ Signature : _____		
PSM type II	☐ Oui ☐ Non concerné	<i>Précisez, documentation et consignes transmises (guide, procédure.....)</i>
Nom : _____ Date : _____ Signature : _____		
Autoclave	☐ Oui ☐ Non concerné	<i>Précisez, documentation et consignes transmises (guide, procédure.....)</i>
Nom : _____ Date : _____ Signature : _____		
Etuve CO ²	☐ Oui ☐ Non concerné	<i>Précisez, documentation et consignes transmises (guide, procédure.....)</i>
Nom : _____ Date : _____ Signature : _____		
Bouteille de gaz (CO ²)	☐ Oui ☐ Non concerné	<i>Précisez, documentation et consignes transmises (guide, procédure.....)</i>
Nom : _____ Date : _____ Signature : _____		
Autres... (PTI, DATI...)	☐ Oui ☐ Non concerné	<i>Précisez, documentation et consignes transmises (guide, procédure.....)</i>
	☐ Oui ☐ Non concerné	<i>Précisez, documentation et consignes transmises (guide, procédure.....)</i>
	☐ Oui ☐ Non concerné	<i>Précisez, documentation et consignes transmises (guide, procédure.....)</i>

SIGNATURE DE L'UTILISATEUR :	SIGNATURE DU RÉFÉRENT DU CONFINEMENT :
J'atteste avoir reçu et compris les consignes générales de sécurité et les consignes spécifiques au poste de travail. Je m'engage à les mettre en application lors de l'exécution de mon travail. J'atteste également, avoir pris connaissance du règlement intérieur et des procédures d'accès à la zone de confinement. Je m'engage : ▪ À informer référent L3 ou le responsable de la zone de confinement de tout incident, accident, dysfonctionnement, qui sera également noté dans le RSST situé au ▪ À venir au laboratoire durant les heures ouvrables soit du lundi au vendredi de , et ne jamais être en situation de travail isolé. ▪ À informer le référent L3 ou le responsable de la zone de confinement de l'évolution de mes projets d'expérimentation. Nom : Prénom : Date : Signature :	J'atteste avoir donné les consignes de sécurité et les bonnes pratiques en laboratoire de confinement 3 nécessaires à la réalisation des manipulations mentionnées sur ce document. Après évaluation des connaissances, le niveau de maîtrise de l'agent semble suffisant pour qu'il exécute ces activités. Nom : Prénom : Date : Signature :
SIGNATURE DE L'ENCADRANT : Nom : Prénom : Date : Signature :	SIGNATURE DU DIRECTEUR DE L'UMR : Nom : Prénom : Date : Signature :

