

Symbiotron

Bâtiment DUBOIS

**8 rue Raphaël Dubois
69100 Villeurbanne**

PROCEDURE

**Utilisation des
laboratoires L2**

**Version Avril
2024**

PROCEDURE GENERALE D'UTILISATION DES LABORATOIRES L2

Référence : SD-L2-P01

Objet

Cette procédure définit l'accès, l'entrée, la sortie, les manipulations, l'entretien dans le laboratoire L2 du SYMBIOTRON-DUBOIS situé au 4^{ème} étage du bâtiment DUBOIS de l'Université Claude Bernard Lyon-1 8 rue Raphaël Dubois 69100 Villeurbanne.

Domaine d'application

Cette procédure s'applique aux personnels habilités à travailler dans le laboratoire L2 ainsi qu'aux équipements, matériels, consommables, produits infectieux et déchets qui sont utilisées ou produits dans le laboratoire.

Diffusion, révision et archivage

Cette procédure est à diffuser à l'ensemble des utilisateurs du L2, à l'assistant prévention, aux Conseillers de prévention de l'Université Claude Bernard et au conseil scientifique du Symbiotron. Ce document devra être signé et archivé au sein du L2. Toute procédure doit être vérifiée régulièrement afin d'assurer la cohérence du système assurance qualité. Toute modification même minime entraîne un changement de version. A chaque nouvelle version, l'original de la version précédente est archivé pour une durée de trois ans.

Documents de référence et documents associés

SD-L2-P03 Bonnes Pratiques de Laboratoire – L2 Symbiotron

SD-L2-P08 Utilisation autoclave du laboratoire – L2 Symbiotron

SD-L2-P02 Conduite à tenir en cas d'urgence – L2 Symbiotron

Date	Rédacteur	Vérificateur	Approbateur	Version
05/05/2023	Angelo Jacquet	Jihane Menana	Catherine Sigala Xavier Le Roux	Juin 2023
09/04/2024	Angelo Jacquet			Avril 2024

Table des matières

01. Généralités	4
1. Mesures générales de prévention	4
2. Prévention du risque d'exposition au sang	4
3. Autorisations d'accès	4
4. Règlement intérieur	5
5. Matériels, CO ₂ , produits et consommables	6
02. Procédures d'entrée	7
1. Avant d'entrer	7
2. Entrée du personnel	7
3. Circulation interne	8
1. Procédure d'entrée dans les salles techniques	8
2. Procédure de transport interne d'échantillon et de matériel	8
03. Travail dans le L2	9
1. Précautions de manipulation en laboratoire L2	9
2. Utilisation des PSM	9
3. Utilisation de l'autoclave	12
4. Utilisation des centrifugeuses :	12
5. Utilisation de l'interphone/téléphone du L2	13
6. Organisation du travail avec les arthropodes	13
04. Gestion des déchets	14
1. Pré-requis :	14
2. Déchets Chimiques	14
3. Déchets biologiques	14
4. Cas des Arthropodes :	16
5. Cas des déchets OGM :	16
6. Cas des déchets en contact avec un agent biologique de groupe 2 :	16
05. Procédures de Sortie	16
1. Sortie du personnel	16
2. Sortie de matériel	17
Exemple de triple emballage pour des matières infectieuses de catégorie B	18
3. Sortie des déchets	18
06. Entretien et décontamination du laboratoire L2	19
Engagement de l'utilisateur	20
ANNEXE 1 Manipulation de sang frais provenant de l'EFS avant contrôle sérologique	21
ANNEXE 2 Autorisation temporaire « visiteur » pour l'accès au L2 du SYMBIOTRON	22
ANNEXE 3 Logigramme tri des déchets	23
ANNEXE 4 Plan	26

01. Généralités

Un laboratoire L2 est une enceinte confinée en dépression par rapport à l'environnement où sont manipulés des agents biologiques de groupe de risque 2. L'accès à ce laboratoire est réglementé, réservé aux personnes autorisées et équipées de manière spécifique. Les expériences qui y sont réalisées nécessitent des conditions de sécurité particulières dont les utilisateurs doivent avoir connaissance. Ceux-ci s'engagent à respecter les règles de travail définies dans l'onglet « Bonnes pratiques de laboratoire en L2 ».

1. Mesures générales de prévention

Toutes les activités impliquant une exposition aux agents biologiques font l'objet d'une évaluation des risques par le conseil scientifique du L2. Les résultats de l'évaluation sont consignés dans le DOCUMENT UNIQUE D'ÉVALUATION DES RISQUES PROFESSIONNELS.

Toute nouvelle demande de projet expérimental prévu dans le Symbiotron fera l'objet d'une évaluation des risques associés à l'agent pathogène utilisé. Cette évaluation permettra d'identifier les mesures à prendre afin de prévenir tout risque lié aux agents biologiques susceptibles de porter atteinte à la santé du personnel et la bio-contamination du laboratoire.

Selon les résultats de cette évaluation, cette présente procédure sera mise à jour notamment pour :

- Les modalités de désinfection, de stockage, de transport, d'inactivation, d'élimination des déchets.
- Le type d'équipements de protection individuelle (EPI).

2. Prévention du risque d'exposition au sang

La manipulation de sang frais dont le statut est inconnu (résultats des contrôles sérologiques réalisés par l'EFS non encore reçus), nécessite une vaccination à jour contre l'hépatite A et B + DTPolio obligatoires (art L-3111 du code de la santé publique).

La signature du mode Opérateur de Manipulation de sang frais est obligatoire.

3. Autorisations d'accès

L'accès aux zones confinées de niveau L2 est strictement réglementé :

Une fois que la demande de projet expérimental a été évaluée et acceptée, un passeport d'accès individuel sera créé pour le manipulateur. Une fois ce passeport dûment complété, le manipulateur se verra accorder un accès personnalisé à la zone à l'aide d'un badge individuel.

Le passeport d'accès :

Le passeport d'accès est un livret personnel à compléter en présence du référent de confinement ou du responsable de la zone. Il comprend les éléments suivants :

- Une fiche individuelle d'exposition biologique et chimique permettant au médecin du travail d'identifier les risques potentiels pour l'utilisateur afin d'organiser une visite médicale.
- Une attestation de visite médicale
- Les validations des différentes étapes des formations effectuées avec le référent et l'assistant de prévention du Symbiotron

L'utilisateur doit lire, comprendre et accepter les documents suivants :

- Le règlement intérieur.
- Le protocole d'utilisation du L2
- Les bonnes pratiques de laboratoire du L2
- Le mode opératoire des conduites à tenir en cas d'urgence dans le L2 Une fois que toutes ces conditions sont remplies, le passeport d'accès au laboratoire de confinement correspondant est remis à l'utilisateur, lui permettant ainsi un accès personnalisé à l'aide de son badge individuel.

Le responsable de la plateforme se réserve le droit de retirer cette autorisation à tout utilisateur ne respectant pas le règlement intérieur ainsi que l'ensemble des consignes de travail en zone confinée

4. Règlement intérieur

Les horaires d'ouverture du L2 sont :

Lundi au vendredi, de 8h à 19h

**IL EST INTERDIT DE TRAVAILLER EN DEHORS DES HORAIRES.
EN CAS D'ABSENCE D'UN PERSONNEL DU SYMBIOTRON, IL EST INTERDIT DE TRAVAILLER SEUL DANS LE L2 SANS
EQUIPEMENT DATI/PTI (Protection Travailleurs Isolé).**

Une autorisation exceptionnelle d'accès en dehors de ces heures peut néanmoins être demandée auprès des référents. Il faudra pour cela renseigner votre Nom, celui de la 2eme personne (habilité L2 et également présente à l'étage et pendant toute la durée de vos manipulations), la date et les horaires prévus.

Pour le travail en horaires décalés dans le bâtiment Dubois, même hors du L2, une déclaration préalable doit être effectuée auprès des référents.

Une autorisation temporaire (VISITEUR) peut être accordée. Cet accès vise à montrer des équipements ou des procédures à une personne qui n'a pas d'autorisation permanente d'entrée au L2.

Pour cela, il est entendu que le visiteur ne pourra accéder au L2 qu'accompagné en permanence par un personnel autorisé qui est responsable du visiteur, en particulier le visiteur s'habillera et se déshabillera sous le contrôle de son responsable, il ne manipulera ni ne touchera aucun élément potentiellement contaminé.

Le ménage de la zone confinée est à la charge des utilisateurs, formés aux risques du laboratoire L2. (cf chapitre 05)

EN FIN DE PROJET contacter le référent pour état des lieux de sortie

5. Matériels, CO₂, produits et consommables

La maintenance des équipements du L2, l'approvisionnement en CO₂, les vêtements et les consommables de base ainsi que l'élimination des déchets sont supervisés par un responsable du L2.

Le Symbiotron prend en charge :

Les contrôles, la maintenance et la réparation du traitement d'air, des PSMs, des incubateurs, des centrifugeuses et de tout le parc matériel.

L'approvisionnement en CO₂, les EPIs (Equipements de Protection Individuelle) et les produits de décontamination/entretien.

L'élimination des déchets.

Sont à la charge des utilisateurs :

Les consommables (plastiques, milieux, réactifs...) nécessaires aux expérimentations.

La gestion de leur stock (la pièce de stockage se situe au R+5 du bâtiment).

Adresse de livraison : Symbiotron, « votre nom et prénom »

Bâtiment DUBOIS, R+5

8 rue Raphaël Dubois

69100 Villeurbanne

02. Procédures d'entrée

Le risque biologique est signalé sur la porte d'entrée du L2.

Le nom des responsables ainsi que la liste des personnes autorisées à y pénétrer,

L'efficacité du niveau de confinement est assurée par une bonne gestuelle de laboratoire, le respect des procédures en vigueur et le maintien en bon état de fonctionnement du matériel et des installations techniques du laboratoire.

1. Avant d'entrer

Les effets personnels (hors lunettes) restent dans les bureaux ou dans le vestiaire. Ne rentrer que le strict nécessaire.

Bien préparer sa manipulation (durée, matériel et réactifs nécessaires).

Les ordinateurs reliés au réseau pourront être utilisés pour consulter des documents ou envoyer des résultats (tableau, photos...) vers un dossier distant du réseau partagé.

Les ordinateurs du Symbiotron ne doivent en aucun cas servir pour le stockage de résultats.

1. Réserver une plage horaire pour l'utilisation des PSM (et certains équipements) sur le planning accessible via l'intranet : <https://symbiotron.univ-lyon1.fr/booking/>
2. S'assurer qu'on ne présente pas de plaies aux mains ou sur le visage ; dans le cas contraire, éviter d'entrer ou à défaut les recouvrir d'un pansement étanche disponible dans l'armoire à pharmacie à l'entrée du L2.
3. Vérifier l'affichage des pressions sur le manomètre avant d'entrée dans le SAS vestiaire : **≤15 PA**



En cas de pressions non réglementaires, noter l'anomalie sur le registre "entrée / sortie L2" et prévenir un responsable du L2, à défaut par email en mettant dans la boucle d'information un assistant de prévention.
NE PAS ENTRER, attendre les instructions.

2. Entrée du personnel

SAS vestiaire

1. Badger et pénétrer dans le SAS vestiaire. S'assurer de la bonne fermeture de la porte d'entrée du SAS
2. Laisser les effets personnels, habits, dans les casiers prévus à cet effet
3. S'inscrire sur le registre d'entrée (localisé devant la porte du SAS vestiaire)
4. Changer de chaussures pour celle dédié au Symbiotron
5. Enfiler des surchausses

6. Passer une blouse jetable
7. Passer une paire de gants
8. Pénétrer dans le L2 et s'assurer de la bonne fermeture de la porte d'accès au L2

- Mettre un masque chirurgical en cas de rhume
- En cas de travail isolé (pas de personnel du Symbiotron, aucune personne inscrite sur le registre) > **prendre obligatoirement le DATI/PTI.**



NB : Masque FFP2 et Lunettes de sécurité sont disponibles dans le vestiaire (usage spécifique au projet scientifique ou pour des situations d'urgence).

3. Circulation interne

1. Procédure d'entrée dans les salles techniques

Vérifier l'affichage des pressions sur le manomètre avant d'entrer dans chaque pièce. En cas de pressions non réglementaires ($> \pm 5$ pa) alerter les responsables.
NE PAS ENTRER et attendre les instructions

2. Procédure de transport interne d'échantillon et de matériel



Les échantillon biologiques, chimiques ainsi que les réactifs devront être confinés dans des boîtes hermétiques pour le transport en dehors des salles techniques et de stockage (CIRCULATION).

Pour cela, des chariots sont disponibles dans la circulation côté Sud.

03. Travail dans le L2

1. Précautions de manipulation en laboratoire L2

En cas de non-respect des règles établies, les personnes mises en cause pourront alors être exclues du laboratoire L2.

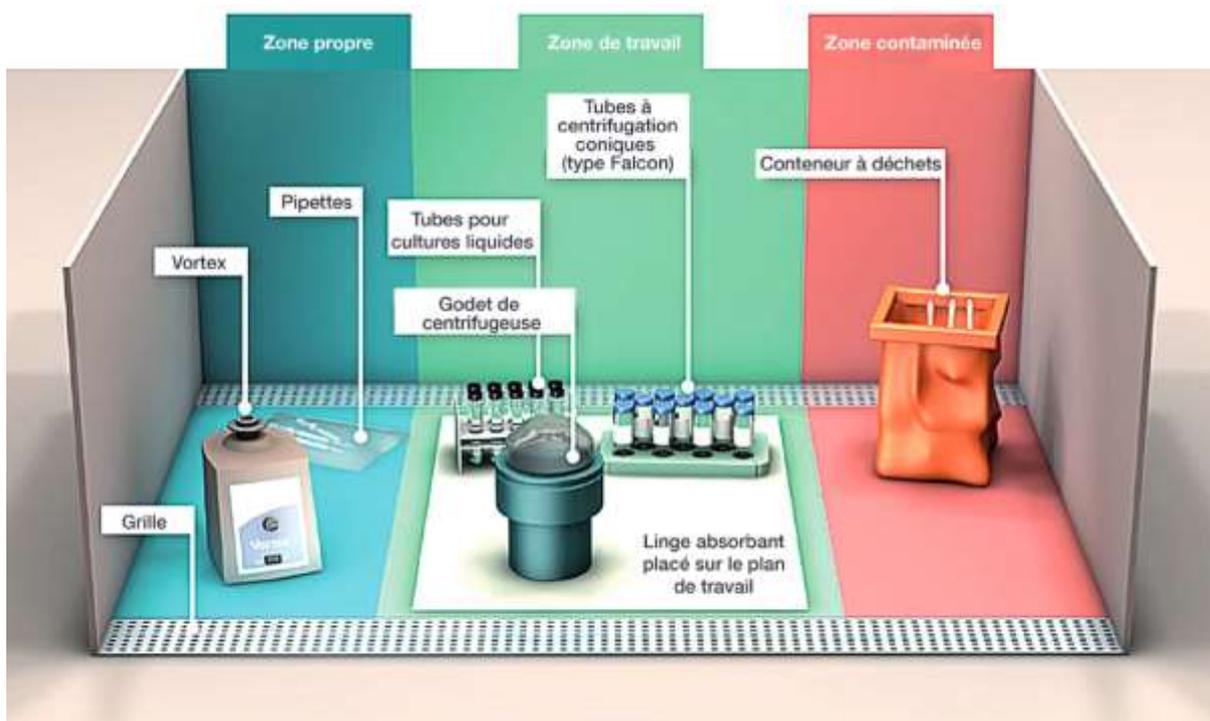
L'utilisation correcte des PSM et le respect des bonnes pratiques de laboratoire L2 sont les meilleurs garants de la sécurité de tous.

Les consignes de bonnes pratiques de laboratoire en L2 sont décrites dans le document « SD-L2-P03 Bonnes Pratiques de Laboratoire – L2 Symbiotron »

Ce document doit être lu, compris et accepter.

- Les postes de travail, PSM, paillasse, hotte etc. doivent être désinfectés avant et après chaque utilisation
- La désinfection de son espace de travail doit se faire soigneusement et pas dans la précipitation au même titre que les expérimentations.
- Tout ce qui se trouve à l'intérieur du PSM doit faire l'objet d'une décontamination en surface avant d'être retiré du volume de travail.
- Tous les déchets issus de PSM (contaminés ou non) doivent être inactivés avant évacuation conformément à la procédure d'utilisation des PSM ci-dessous.
- **Le ménage de la zone confinée est à la charge des utilisateurs, formés aux risques du laboratoire L2. (cf chapitre 05)**

2. Utilisation des PSM



Généralités :

1. **Tout ce qui se trouve à l'intérieur du PSM**, le matériel, les déchets fermes, les godets, les rotors étanches y compris l'appareillage, **doit faire l'objet d'une décontamination en surface avant d'être retiré du volume de travail** et jeté, si nécessaire, dans la grande poubelle.
2. **Changez de paires de gants avant de manipuler les différents appareils** (réfrigérateur, centrifugeuse). De même, changez de gants lorsque vous sortez de la salle technique.
3. Les postes doivent être allumés au moins 10 min avant le début des opérations et après la fin du travail pour « purger » le poste, (ex : pour permettre à l'air contaminé d'être évacué de l'environnement du poste). Après arrêt, les postes doivent être fermés et mis sous UV pendant 15 minutes ou plus selon l'évaluation des risques associés au pathogène.
4. Veiller à ne pas trop encombrer cet espace de travail au risque de gêner le flux laminaire et de créer des zones de non stérilité.
5. Eviter de rentrer du papier qui est générateur de particules pouvant boucher les filtres.
6. Veiller à manipuler calmement et proprement afin d'éviter la formation d'aérosols et de contaminations du PSM.

Procédures d'urgence :

Toutes les procédures d'urgence sont affichées au niveau des téléphones de sécurité ainsi que dans le document associé « Procédure : conduite à tenir en cas d'urgence dans le laboratoire I2P2 ».

Panne du PSM ou panne d'électricité

1. Arrêter toute manipulation immédiatement
2. Refermer les tubes et flacons contenant du matériel infectieux
3. Obturer l'ouverture frontale par le panneau d'obturation s'il existe ou autre moyen prévu et tenu à disposition et sortir de la pièce.
4. Attendre 30 minutes avant de la réutiliser et bien nettoyer la surface de travail
5. Les PSM sont sécurisés avec un groupe électrogène de secours
6. Les procédures en cas de panne électrique et défaut du PSM sont affichées sur chaque PSM

Déversement de matériel biologique infectieux à l'intérieur du PSM

Les procédures de base pour faire face à un déversement de matériel biologique infectieux dans le PSM sont affichées sur le PSM. Sont indiqués le pathogène manipulé, le mode de transmission et la désinfection préconisée.

1. Laisser en marche le PSM
2. Vaporiser l'intérieur du cabinet avec le désinfectant indiqué EN RESPECTANT LA PROCEDURE DE DECONTAMINATION (CHAPITRE 05)
3. Laisser le temps de contact nécessaire. Normalement, 20 minutes sont suffisantes
4. Essuyer avec du papier absorbant. Ne pas oublier le dessous de la grille
5. Nettoyer les surfaces du matériel présent dans le PSM
6. Jeter les papiers absorbants dans la poubelle solide du PSM. Suivre la procédure pour la disposition des déchets.

Inscrire l'incident dans le Registre

Procédure d'utilisation des PSM :

Préparation du PSM

1. Mettre en route le PSM 10 min avant la manipulation d'agents infectieux. Vérifier qu'il fonctionne correctement (pas de mise en alarme).
2. Désinfecter le plan de travail

3. **Préparer la poubelle Liquide** et l'étiqueter avec le nom d'utilisateur, le pathogène utilisé et la date (flacon et bouchon autoclavable).
4. **Préparer la poubelle des déchets solides souillés** : cônes, tubes Eppendorf, boîtes de pétri etc... : sachet Zip lock (scellable)
5. Si utilisation de pipettes : préparer un récipient DASRI Plastique jaune 3L (initialement prévu pour les objets coupants), avec un fond de Virkon.
6. **Vérifier la présence à côté ou sous le PSM d'une poubelle équipée d'un grand sac autoclave (rouge) afin d'éliminer les déchets solides de type emballage et papier absorbant.**

LIQUIDE



SOLIDE



PIPETTES



7. **Avoir à portée de main du spray désinfectant (ou pissette d'éthanol) et un paquet de papier absorbant.**

Consignes de Manipulation

1. Installer le matériel sous le PSM
2. Introduire le matériel biologique
3. Travailler avec des gestes pondérés
4. Manipuler bien au centre du plan de travail
5. Lors de la remise en suspension d'une préparation de micro-organismes, les aspirations et refoulements successifs à travers la pipette devront être réalisés avec précaution
6. Il est recommandé de faire s'écouler les liquides le long de la paroi du récipient, sous la surface du liquide à remettre en suspension
7. Il est impératif d'éliminer les déchets liquides résiduels des flacons de culture, des tubes ou des plaques dans la poubelle liquide. Autrement dit aucun liquide ne doit être placé dans la poubelle solide.
8. L'intérieur des flacons de cultures, tubes, plaques, ... doivent être décontaminés avant d'être placés dans la poubelle solide



Pour être bien protégé par le bandeau de reprise, ne rien poser sur la partie rainurée au bord de la grille

Après manipulation

L'UTILISATEUR DECONTAMINERA SA POUBELLE LIQUIDE ET LE PLAN DE TRAVAIL DU PSM :

1. Mettre une demi-pastille de Virkon pour 250 ml de liquide, fermer la bouteille et laisser agir le désinfectant quelques heures ou idéalement sur la nuit à l'extérieur du PSM.
2. Fermer, sceller et mettre le sachet de poubelle solide (ou double sac l'un dans l'autre) dans la poubelle dédiée au PSM
3. Appliquer la mousse détergente désinfectante (Surface Safe) sur les surfaces du PSM
4. Bien répartir à l'aide d'un papier absorbant et laisser agir 5min.

Les PSM devront être vidés de leur contenu avant le nettoyage. Les vitres frontales, les faces interne et externe du PSM doivent être nettoyer.

5. Après remise en place de la partie frontale du PSM, éteindre le PSM puis mettre les UV en marche 15 minutes minimum.

Traitement des déchets Biologiques liquides :

Sous PSM, mettre une demi pastille de Virkon pour 250 ml de liquide. Laisser agir la nuit à l'extérieur du PSM. Une fois remplis jusqu'au niveau maximum, les déposer dans le bac dédié en laverie.

Traitement des déchets Biologiques solides :

- Les emballages, gants papier etc. non souillés sont à mettre dans la poubelle dédiée au PSM (avec sac autoclavable)
 - Les sachets de poubelle solide des PSM (scellés et fermés) sont à mettre dans la poubelle dédiée au PSM (avec sac autoclavable)
- ⇒ **Une fois le sac autoclavable plein : le fermer avec du ruban indicateur et le stocker en laverie dans un fût jaune en attente ou idéalement sur les bacs du chariot de l'autoclave en laverie.**

- Traitement des pipettes

Sous PSM déposer la pipette dans le récipient destiné à cet usage (DASRI Plastique jaune 3L), qui contient un fond de décontaminant.

Laisser le temps d'incubation nécessaire au type de décontaminant utilisé.

S'il est nécessaire de libérer le PSM avant le temps requis (souvent de ± 20 min), transférer vos pipettes dans un autre bac contenant ce même décontaminant.

Après décontamination, transférer les pipettes dans la poubelle PSM (avec sac autoclavable rouge).

Changer le décontaminant régulièrement.

3. Utilisation de l'autoclave

Seules les personnes formées et habilitées à la conduite de l'autoclave du L2 pourront mettre en service l'autoclave. La liste à jour des personnes habilitées sera affichée sur celui-ci.

Les sacs autoclavables (rouge) et les flacons de poubelles liquides de PSM doivent être autoclavés avant sortie :



Les liquides et solides ne doivent pas être mélangés, ni autoclavés en même temps.

Après autoclavage : les liquides pourront être évacués à l'évier et les solides évacués en DASRI (poubelle carton jaune).

4. Utilisation des centrifugeuses :

Les centrifugeuses utilisées pour le matériel biologique infectieux sont munies de godets de sécurité ou de rotors hermétiques (**étiquette danger biologique sur le dessus**).

Au cours d'une centrifugation, il peut y avoir production d'aérosols. Les règles de sécurité doivent donc être rigoureusement respectées lorsqu'on utilise une centrifugeuse.

Le chargement et le déchargement des godets et des rotors se fait sous un PSM afin de ne pas laisser échapper d'aérosols.

Pendant la centrifugation, le couvercle doit être hermétiquement fermé.

Il ne faut pas ouvrir la centrifugeuse avant l'arrêt complet du rotor.

Les centrifugeuses doivent être périodiquement inspectées à la recherche de traces d'usure ou de dommages ; elles doivent être entretenues conformément aux instructions du fabricant.

Veiller à bien équilibrer les tubes dans les plots de la centrifugeuse qui doivent être fermés sous le PSM.

Il est obligatoire d'utiliser les couvercles de nacelles pour chaque centrifugation.

Après la centrifugation, les plots de la centrifugeuse doivent être ouverts sous le PSM afin de récupérer les tubes (ou plaques)

5. Utilisation de l'interphone/téléphone du L2

Dans chaque pièce technique se trouve un téléphone, le 30 permet de contacter directement le PC sécurité, les numéros essentiels se trouvent affichés au-dessus de chaque téléphone.

6. Organisation du travail avec les arthropodes

Moyens de prévention des risques liés à la fuite des arthropodes et à la formation d'aérosol

Des mesures appropriées ont été mises en place pour éviter que des arthropodes ne s'échappent des systèmes d'hébergement et des salles dédiées aux activités techniques : barrières filtrantes sur les bouches de ventilations, douches à air, pièges à lumière, cages de contention sécurisées, diffuseur d'insecticides, **congélation ou stérilisation de tous déchets avant sortie DASRI (pour assurer l'euthanasie)**.

L'accès aux salles d'hébergement (chambres climatiques) et à l'insectarium sont restreints aux seules personnes habilitées. Toutes les personnes travaillant avec des insectes reçoivent au préalable une formation appropriée aux arthropodes hébergés et aux mesures d'hygiène adaptées. Ces personnes sont formées pour répondre aux situations d'urgence résultant de la libération accidentelle des arthropodes.

Durant la manipulation d'insectes dans l'insectarium L2 il est formellement interdit à toutes personnes non-formées à ce type de manipulation de pénétrer/travailler dans la salle technique sauf dans le cas d'une formation « insectes ».

Transfert des arthropodes OGM ou infectés

Les opérations nécessitant la sortie des arthropodes des salles dédiées aux activités techniques ne s'effectuent que s'il n'existe pas d'autres moyens pour transporter les matières infectieuses ou si le protocole expérimental le nécessite et doit dans tous les cas n'être qu'à titre exceptionnel. A aucun moment il ne doit y avoir rupture du confinement préconisé. Les mesures de confinement lors du transport sont au moins équivalentes à celles de l'hébergement : cages de confinement sécurisées en triple emballage réglementaire. La résistance du système de confinement en cas d'accident est évaluée préalablement au transfert.

Les conteneurs comportent la mention « arthropodes vivants » et respectent la réglementation.

Conduite à tenir en cas d'échappement des arthropodes de leur système d'hébergement

PROTOCOLES ASSOCIE : PLAN D'URGENCE SYMBIOTRON L2

Prévenir immédiatement les responsables du L2 via le téléphone situé dans l'insectarium ou en CIRCULATION qui procéderont à la pulvérisation d'insecticide.

En cas de risque de piqûre, sortir de l'insectarium ou de la chambre climatique le plus rapidement possible en prenant toutes les précautions pour sortir sans laisser s'échapper les insectes.

Conduite à tenir et personnes à prévenir en cas de piqûre par un arthropode



En cas de piqûre par un arthropode infecté, sortir immédiatement de l'insectarium ou de la chambre climatique en prenant toutes les précautions pour sortir sans laisser s'échapper les insectes. Prévenir immédiatement le PC sécurité (30) ou les responsables du L2, qui prendront les dispositions d'urgence et préviendront le médecin référent.

04. Gestion des déchets

1. Pré-requis :

Pour tout nouveau contenant de déchet, indiquer :

- La date d'ouverture
- L'établissement : UCBL bâtiment Dubois R+4
- Le Service : Symbiotron Dubois

Avant chaque projet les utilisateurs sont formés au traitement et à l'évacuation de leurs déchets biologiques et chimiques.

Pour les déchets issus des PSM, se référer au chapitre « 3.2. Utilisation des PSM ».

Si en cours de projet un nouveau produit chimique doit être utilisé, Il est obligatoire de consulter le référent et l'AP du Symbiotron afin d'être guidé pour son conditionnement et son stockage.

Les règles de traitements des déchets sont consultables en Annexe 4 : logigrammes (service de prévention des risques de l'université Lyon 1) permettant de déterminer la filière appropriée à la plupart des déchets chimiques et biologiques. Des cas particuliers peuvent ne pas être traités dans ce logigramme, ils devront alors faire l'objet d'une analyse de risques spécifique afin de déterminer la filière appropriée.

2. Déchets Chimiques

Tout déchet chimique doit être évacué dans le contenant adapté, mis à disposition. (cf ANNEXE ...)

Une fois rempli, contacter le référent ou l'AP du Symbiotron pour l'évacuation

3. Déchets biologiques

Type de contenant

	 Cartons	 Fûts	 Boîtes à aiguilles	 Sacs	 Bidons
Déchets mous	✓	✓	✗ Inadapté	✓	✗ Inadapté
Déchets solides	✓	✓	✗ Inadapté	✓	✗ Inadapté
Déchets liquides	✗ INTERDIT	✗ INTERDIT	✗ INTERDIT	✗ INTERDIT	✓ Gélification obligatoire
OPCT (Objets Coupants, Piquants, Tranchants)	ⓘ Boîtes à aiguilles scellées	ⓘ Boîtes à aiguilles scellées	✓	✗ INTERDIT	✗

Déchets biologiques solides :

Les déchets solides : gants, papiers, **emballages plastiques**, Eppendorf, etc... ainsi que tout autre déchet, sont à mettre en DASRI



Les poubelles de déchets solides sont disponibles dans toutes les salles techniques ainsi que dans le SAS.

Tout déchet pouvant déchirer le sac et/ou carton DASRI est à mettre dans des fûts jaunes DASRI.

-Traitement des piquants, coupants, tranchants (aiguilles, lames de scalpel, cônes, pipettes Pasteur etc.)



Recueillir les aiguilles, lames de scalpel, cônes, pipettes Pasteur etc. dans le collecteur jaune DASRI pour objet coupant. Une fois ce dernier rempli, le fermer hermétiquement (verrouillage).

Déposer le conteneur hermétiquement clos, dans la poubelle balisée pour déchets biologiques solides.

Disposer un nouveau container à la place de l'ancien.

-Traitement des pipettes :



Replacer les pipettes jetables usagées dans leur sachet puis les placer verticalement dans la poubelle pour déchets biologiques solides (fût jaune)

Une fois les poubelles à déchets solides remplies, les fermer et noter la date.

Déchets biologiques liquides :



Utiliser les bidons jaunes de 10 L (« Bidon UN 3291 Matière infectieuse ») pour les déchets biologiques liquides.

Quand ce dernier est plein, ajouter de la poudre gélifiante (15 grammes par litre), puis noter la date de fermeture.

4. Cas des Arthropodes :

Tous arthropodes doivent être euthanasié avant sortie en déchet Biologique : **48h à -25°C**

En cas d'Arthropodes OGM se référer au chapitre suivant

5. Cas des déchets OGM :

En contact avec un OGM de groupe 1

Indiquer la mention « **OGM** » sur le DASRI ou bidon jaune (! la gélification des liquides est obligatoire)

En contact avec un OGM de groupe 2

A inactiver avant évacuation : les déchets sont à mettre dans des poubelles avec sac autoclavable : une fois remplis, les fermer avec du ruban indicateur et les stocker idéalement sur les bacs du chariot de l'autoclave.

6. Cas des déchets en contact avec un agent biologique de groupe 2 :

Seuls les déchets issus des PSM sont susceptibles d'être en contact avec un agent biologique de groupe 2 > se référer au chapitre « 3.2. Utilisation des PSM ».

05. Procédures de Sortie

1. Sortie du personnel

Avant de sortir du L2

- Désinfecter son poste de travail
- Replacer le matériel pour le prochain utilisateur
- Vérifier que les appareils (microscope, centrifugeuse, PSM...) soient bien éteints, les PSM fermés
- Une fois plein, fermer les sacs à autoclave en utilisant un ruban adhésif témoin et placer la poubelle devant l'autoclave. Mettre un nouveau sac dans une poubelle propre
- Vérifier aussi qu'il y a suffisamment d'eau dans les incubateurs et que les bouteilles de CO₂ sont fermées
- **Changer de gants**

Dans le SAS Vestiaire

1. **Retirer sa blouse et jeter ses surchausses** dans la poubelle DASRI CARTON du SAS
2. Oter les gants et les jeter dans le sac pour déchets solides
3. **Se laver les mains**
4. **Inscrire l'heure de sortie sur le registre**

Dans le cas où il n'y aurait pas de personnel du Symbiotron, vous devez apporter le DATI/PTI au dernier utilisateur.

2. Sortie de matériel



Les responsables du L2 doivent être informés au préalable de toute sortie de matériel (équipement ou matériel infectieux), afin de délivrer leur autorisation.

- L'envoi par la Poste de produits dangereux est strictement prohibé.
- D'une manière générale, le transport d'un produit dangereux est interdit dans tous les moyens de transports en commun (métro, bus, train, ferry...).
- Le transport d'un produit dangereux dans un véhicule personnel est interdit.

Au vu des obligations et responsabilités de l'expéditeur, des obligations de désignation des produits et obligations de classification des dangers, les référents du L2 accompagnent toute sortie de matériel (infectieux ou non) et veillent que les systèmes de confinement utilisés soient appropriés et validés pour le transfert des échantillons hors L2.

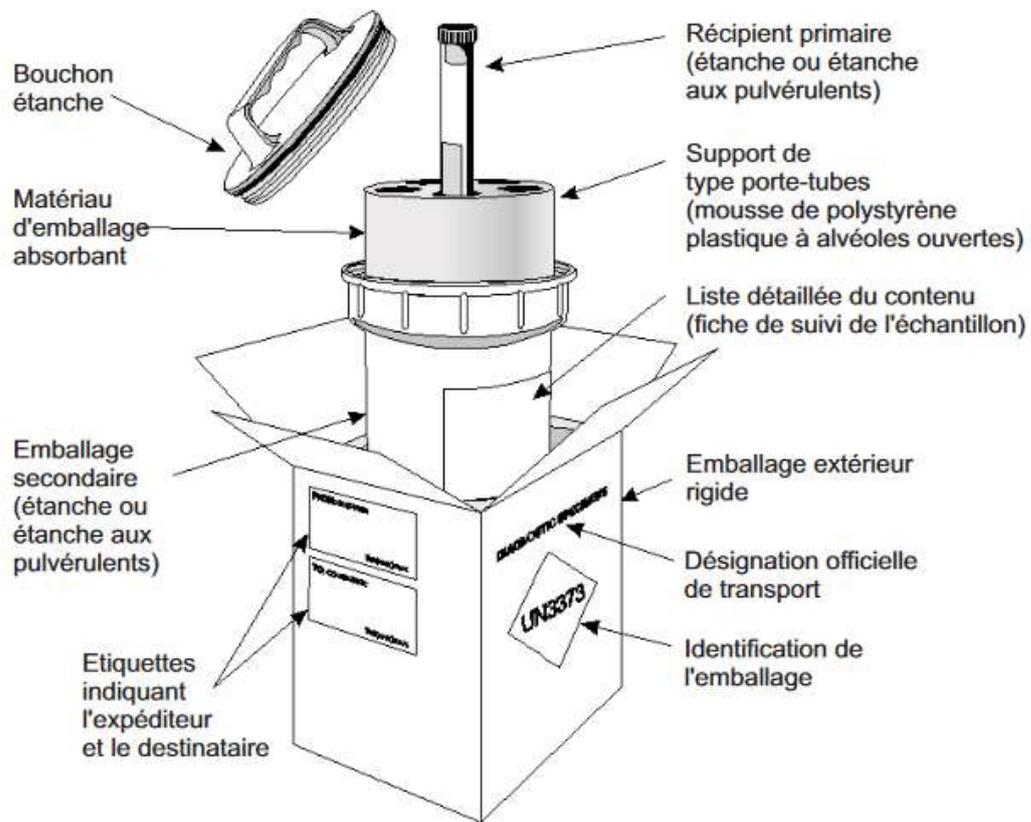
Se référer au « Guide pratique sur l'application du règlement relatif au Transport des matières infectieuses » de l'OMS ou du Guide risques biologiques du CNRS

Dans le L2

1. Désinfecter l'extérieur du tube contenant l'échantillon à l'aide d'une lingette imprégnée d'une solution désinfectante (type SURFA'SAFE)
2. Placer les échantillons dans une boîte en les calant efficacement
3. Désinfecter la boîte à l'aide d'une lingette désinfectante

Dans le SAS entrée

1. Placer la boîte dans un emballage rigide pour l'expédition, sinon des glacières pourront être utilisées pour le transport d'un bâtiment à un autre
2. Désinfecter l'emballage à l'aide d'une lingette imprégnée d'une solution désinfectante (type SURFA'SAFE)



Exemple de triple emballage pour des matières infectieuses de catégorie B

3. Sortie des déchets

Seul le personnel du Symbiotron est autorisé à sortir les déchets chimiques et biologiques afin d'être traité dans la filière appropriée.

06. Entretien et décontamination du laboratoire L2

LISTE DES DECONTAMINANTS A UTILISER

A utiliser sur	Produit	Action détergente	Concentration	Temps de contact
Surfaces : PSM, paillasse, matériel solide	Surfa'Safe	Oui	Prêt à l'emploi	Ne pas rincer
Surfaces : PSM, paillasse, matériel solide	Ethanol	Non	70 %	Ne pas rincer
Produits biologiques liquides	Virkon tablette	Oui	1 % : une tablette pour 500 ml	Une heure minimum avant autoclave, idéalement Over Night
Incubateur	Surfa'SafeO ₂	Oui	Prêt à l'emploi	Ne pas rincer
Bain-Marie	-	-	-	-

Le ménage de la zone confinée est à la charge des utilisateurs, formés aux risques du laboratoire L2, selon un planning établi par le **RESPONSABLE DU L2**.

Nettoyage quotidien

- Désinfecter les postes de travail et les PSM utilisés :

Rappel pour les PSM :

Vaporiser les surfaces de travail avec du spray désinfectant (cf tableau ci-dessus) puis les essuyer avec du papier absorbant. Après remise en place de la partie frontale du PSM, éteindre le PSM puis mettre les U.V. en marche.

- Replacer le matériel pour le prochain utilisateur
- Une fois plein, fermer les sacs à autoclave en utilisant un ruban adhésif témoin et placer la poubelle devant l'autoclave. Mettre un nouveau sac dans une poubelle propre.

Nettoyage approfondi

UN PLANNING MENAGE EST ORGANISE PAR LE RESPONSABLE DU L2 (par exemple pour la maintenance des équipements).

Nettoyer le sol avec du Surfanios :

Remplir un seau d'eau tiède avec 8 litres d'eau. Verser 20 mL de SURFANIOS PREMIUM Anios (Dilution à 0,25%) dans le seau de lavage (Conservation de la solution 8 heures maximum).

Mettre la frange sale dans la poubelle DASRI carton en fin de nettoyage.

L'ordre de nettoyage du laboratoire est le suivant : commencer par les salles techniques (culture cellulaire, microbiologie, salle élevage, microscopie, salle d'injection) puis l'espace commun expérimentation, en finissant par le SAS entrée. Utiliser une lingette différente d'une zone à une autre.

Pour le nettoyage du « SAS entrée », utiliser une nouvelle lingette et la jeter dans la poubelle du SAS.

Dans chaque pièce, nettoyer les pailles, les meubles ainsi que les poignées avec le spray désinfectant.

Engagement de l'utilisateur

LES DOCUMENTS SUIVANT SERONT TRANSMIS EN MEME TEMPS QUE LE PROTOCOLE D'UTILISATION DU L2 ET DEVRONT ETRE LUS, COMPRIS ET ACCEPTES PAR LES UTILISATEURS :

BONNES PRATIQUES DE LABORATOIRE L2

MODE OPERATOIRE DES CONDUITES A TENIR EN CAS D'URGENCE DANS LE L2

REGLEMENT INTERIEUR DU SYMBIOTRON

CHARTRE POUR L'UTILISATION DES RESSOURCES INFORMATIQUES DE L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON1

Nom, Prénom :

Fait à :

Le :

Mention « lu et approuvé »

Signature :

ANNEXE 1 Manipulation de sang frais provenant de l'EFS avant contrôle sérologique

Ce mode opératoire a pour objet de décrire la manipulation de sang frais avant contrôle sérologique selon la convention avec l'EFS.

Procédure associée : Plan d'urgence Symbiotron L2, chapitre : Conduite à tenir en cas d'exposition accidentelle à un produit sanguin.

Matériel et solutions :

Blouse, gants, spray virucide Alkydiol, javel 1°.

Prévention du risque d'exposition au sang :

Pour manipuler du sang frais dont le statut est inconnu (avant d'avoir reçu les résultats des contrôles sérologiques réalisés par l'EFS), il faut :

1. Vaccinations à jour contre l'hépatite A et B + DT Polio obligatoires (art L-3111 du code de la santé publique). Consulter le médecin de prévention (Médecine du travail) en cas de doute.
2. Manipuler sous un PSM de type II.
3. Porter les équipements de protection suivant : blouse, gants (le port de 2 paires de gants est conseillé) et lunettes.
4. Autant que possible, ne pas utiliser de matériel piquant ou tranchant.
5. Décontaminer les plans de travail et les portoirs avec un spray virucide type alkydiol à la fin de la manipulation.
6. En cas de fuite de sang : décontaminer les portoirs dans un bain d'eau de Javel 1° de chlore pendant 24 h. Décontaminer les surfaces, extérieurs des tubes, etc...avec le spray virucide Alkydiol.
7. En fin de manipulation, mettre les UV sous le PSM de type II.

Assurer le suivi de la poche en archivant la référence de la poche, le nom du manipulateur et la date.

Archiver les résultats des contrôles sérologiques fournis par l'EFS à posteriori.

Conduite à tenir en cas de détection de marqueur viral par le fournisseur de sang :

En cas de marqueur viral positif, l'EFS prévient la personne référente de la convention. La personne référente confirme la destruction du produit.

L'ensemble des produits issus de la poche de sang doivent être éliminés selon les procédures adéquates d'hygiène et de sécurité.

Liste des référents :

Je certifie avoir pris connaissance du mode opératoire de manipulation.

Nom :

Statut – Appartenance :

Date :

Signature

ANNEXE 2 Autorisation temporaire « visiteur » pour l'accès au L2 du SYMBIOTRON

Je soussigné(e)..... référent(e) du Laboratoire L2 du SYMBIOTRON,

confirme que Mr / Mme / Melle*pourra accéder au L2 le

en tant que « visiteur/se » sous la responsabilité de l'utilisateur

Un accès en tant que visiteur permet de montrer des équipements ou des procédures à une personne qui n'a pas d'autorisation permanente d'accès au L2.

Le visiteur ne pourra accéder au L2 qu'accompagné en permanence par un personnel autorisé. Celui-ci sera alors responsable du visiteur pour toute la durée de sa visite. En particulier, le visiteur s'habillera sous le contrôle de son responsable, il ne manipulera ni ne touchera aucun élément potentiellement contaminé.

Référent du Laboratoire L2 DU SYMBIOTRON :

Le visiteur

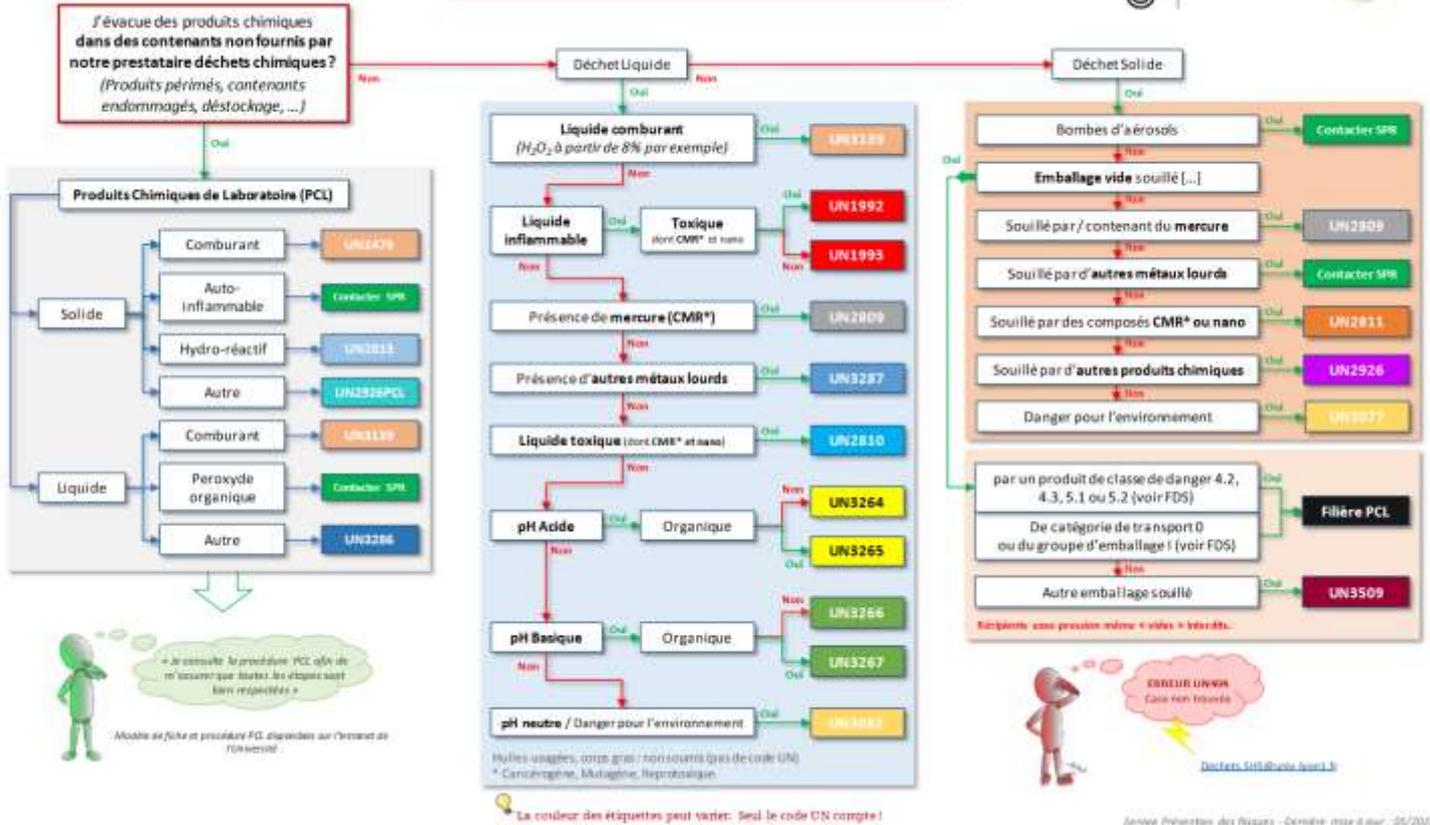
Le responsable du visiteur

(Nom et signature)

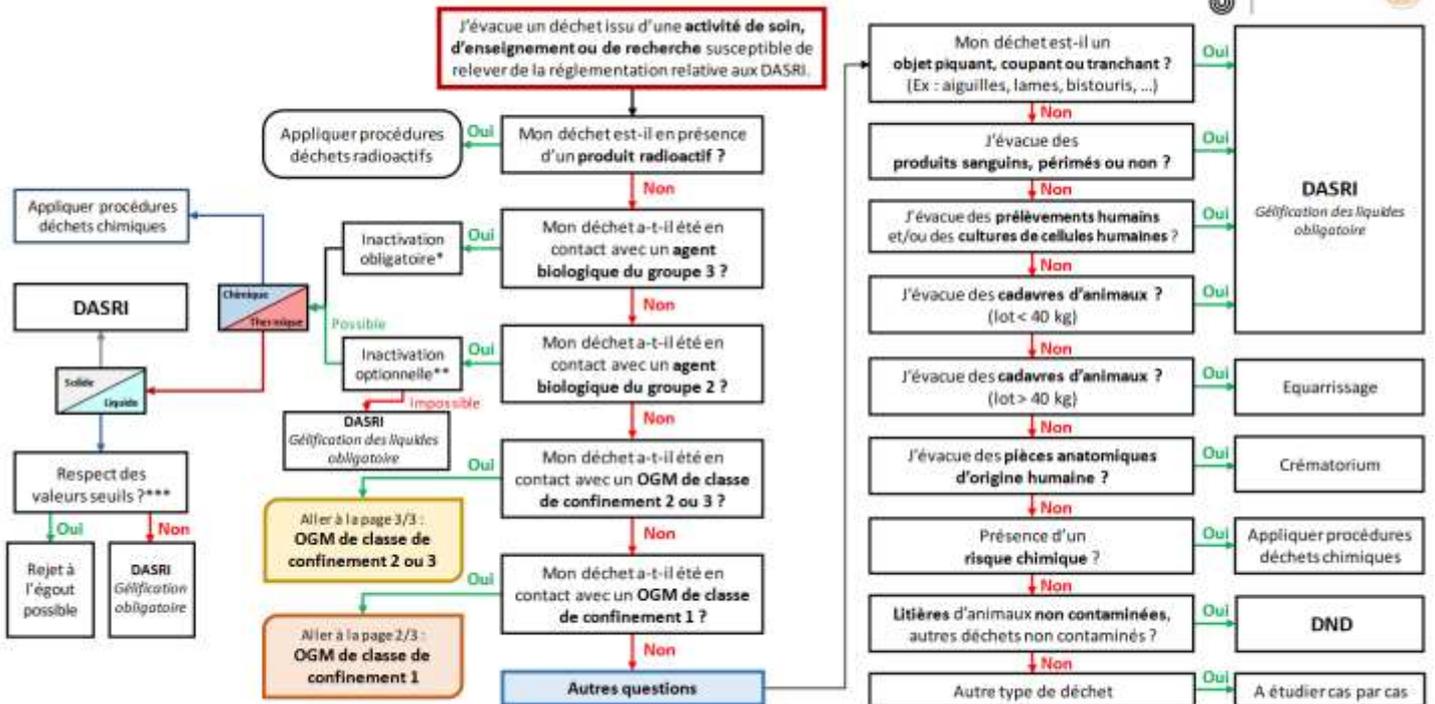
(Nom et signature)

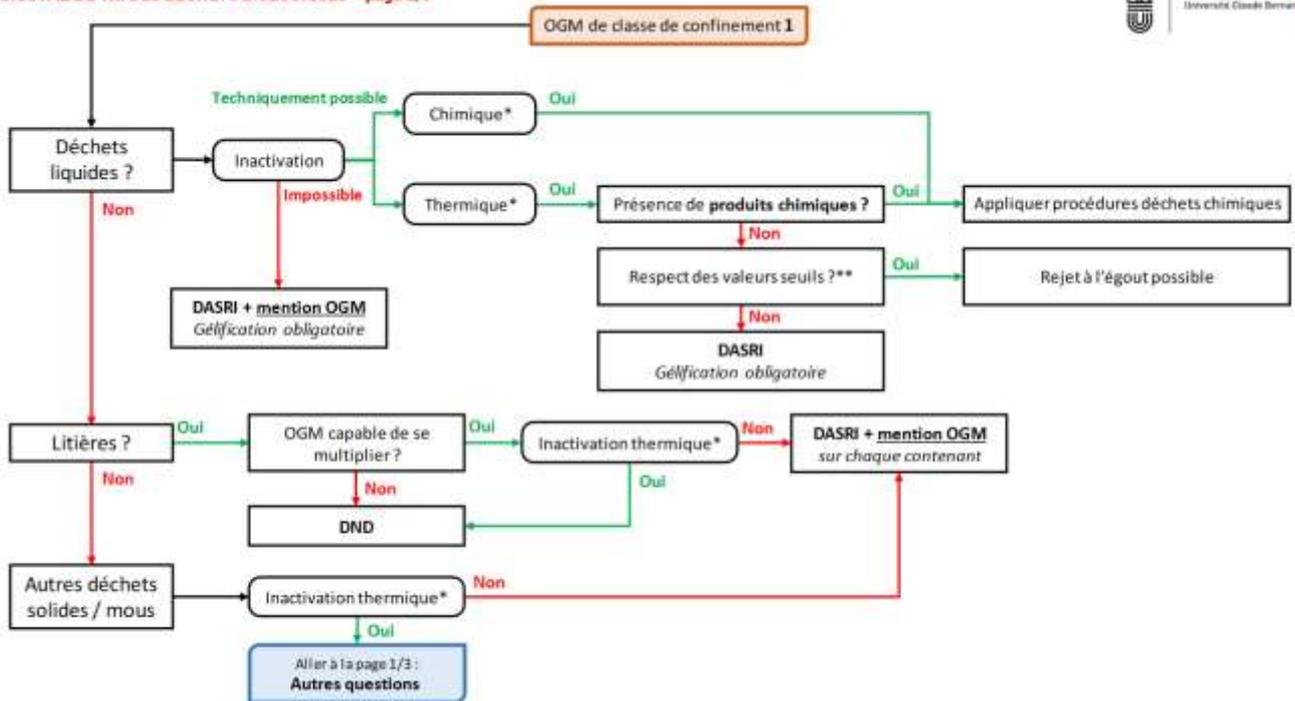
ANNEXE 3 Logigramme tri des déchets

Logigramme de tri des déchets chimiques



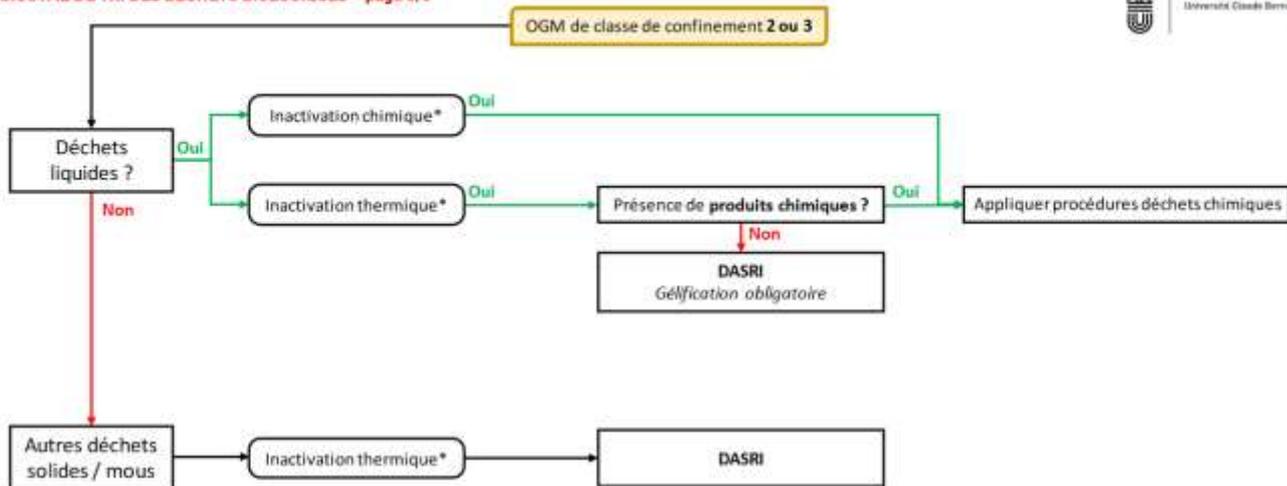
LOGIGRAMME DE TRI DES DECHETS BIOLOGIQUES - page 1/3





* L'efficacité du procédé d'inactivation thermique (autoclavage) ou chimique doit être démontrée et son protocole écrit. L'inactivation chimique ne doit être envisagée que s'il n'est pas possible de mettre en œuvre un procédé d'inactivation thermique (hypochlorite de sodium – eau de javel – à 0,43% de chlore actif final en contact pendant 12h minimum, ou autre méthode validée).

** Voir le Règlement du service public d'assainissement collectif de la métropole de Lyon.



* L'efficacité du procédé d'inactivation thermique (autoclavage) ou chimique doit être démontrée et son protocole écrit. L'inactivation chimique ne doit être envisagée que s'il n'est pas possible de mettre en œuvre un procédé d'inactivation thermique (hypochlorite de sodium – eau de Javel – à 0,43% de chlore actif final en contact pendant 12h minimum, ou autre méthode valide).

