

Risques biologiques



1^{ère} édition décembre 2002

Ce document a été réalisé par :

> Jean-Louis ANDRIEU

Laboratoire de physiologie des régulations énergétiques cellulaires et moléculaires.

Membre du comité d'hygiène et de sécurité du CNRS.

> Marie-Ange JACQUET

Inspectrice générale adjointe d'hygiène et de sécurité du CNRS.

> Damien MONCOQ

Inspecteur régional d'hygiène et de sécurité, Délégation CNRS Nord Est.

> Valérie ROUSTAN

Inspectrice régionale d'hygiène et de sécurité, Délégation CNRS Midi-Pyrénées.

> Janine WYBIER

Inspectrice régionale d'hygiène et de sécurité, Délégation CNRS Ile de France Ouest et Nord.

Les auteurs remercient :

Martine BERTHIER et Véronique VAQUIE, médecins de prévention respectivement à l'Université Paris 11 et à la délégation CNRS Midi-Pyrénées, pour leur participation à la rédaction de la partie concernant la prévention médicale.

L'ensemble des personnes qui ont bien voulu relire le document et apporter des conseils au groupe de travail.

M. Bernard BIJAOU de la société ADS Laminaires, pour avoir fourni la photographie de couverture.

Sommaire

1. Introduction	5
2. Objectif du document	6
3. Réglementation applicable	7
3.1. Champ d'application	7
3.2. Rappel : l'évaluation du risque biologique	7
4. Prévention	8
4.1. Généralités	8
4.1.1. Définitions	8
4.1.2. Classement des agents biologiques	8
4.1.3. Cas particuliers	8
4.1.4. Les voies de pénétration dans l'organisme	11
4.2. Principes généraux de prévention	12
4.2.1. Formation à la sécurité et information des travailleurs	12
4.2.2. Prévention médicale	12
4.2.3. Les confinements	13
4.2.4. Les postes de sécurité microbiologique : choix et utilisation	14
4.2.5. Les bonnes pratiques de laboratoire (BPL) et les équipements de protection individuelle (EPI)	16
4.2.6. Décontamination / désinfection / stérilisation	17
4.2.7. Les déchets	17
4.2.8. Le transport de matériel biologique	18
Réglementation	19
Lexique	22
ANNEXE 1 - Classement des micro-organismes	23
ANNEXE 2 - Principales maladies transmissibles à l'homme suivant l'espèce animale	30

FICHES

1. Les organismes génétiquement modifiés (OGM)
2. Les cultures cellulaires
3. Les laboratoires - confinement L1
4. Les laboratoires - confinement L2
5. Les laboratoires - confinement L3
6. Les postes de sécurité microbiologique (PSM)
7. Les animaleries - confinement A1
8. Les animaleries - confinement A2
9. Les animaleries - confinement A3
10. Les serres - confinement S1
11. Les serres - confinement S2
12. Les serres - confinement S3
13. Les vaccinations
14. La conduite à tenir en cas d'accident
15. La décontamination / désinfection / stérilisation
16. Les déchets

Introduction

L'utilisation de matériel biologique est devenue courante, voire banale, dans nos unités de recherche.

Prévenir un risque, c'est d'abord le connaître.

Or, si les risques liés à la manipulation de certains produits biologiques sont identifiés, la plupart du temps ils restent méconnus et difficiles à évaluer.

Lorsque les risques biologiques ne sont pas bien établis, il conviendra d'appliquer le principe de précaution.

Bien que le risque biologique soit dominé par le risque infectieux, d'autres risques peuvent également être rencontrés, conduisant à :

- des pathologies respiratoires immunoallergiques : asthme, rhinite, alvéolites allergiques extrinsèques,
- des pathologies toxiques (les endotoxines libérées par lyse bactérienne),
- des cancers (virus).

D'autre part, une mauvaise utilisation de ce matériel peut conduire à une dissémination nuisible pour l'environnement.

Afin de réduire ces risques, il est nécessaire de passer par une première étape d'évaluation :

- en repérant les dangers connus ou potentiels à l'aide de la réglementation et de l'étude bibliographique relative au matériel utilisé,
- en identifiant les voies spécifiques de contamination pour ce matériel,
- en tenant compte des protocoles expérimentaux et des quantités utilisées.

A l'issue de cette démarche, une prévention adaptée pourra et devra être mise en œuvre.

Objectif du document

Les informations actuellement connues et transcrites dans ce guide doivent vous aider à évaluer vos risques et à vous protéger.

Trois précisions sont à apporter :

- seul le risque biologique est abordé et non l'ensemble des risques rencontrés en laboratoire de biologie,
- ce document traitera de matériel biologique au sens large, en intégrant les risques liés aux plantes, animaux, tissus vivants, prions et produits biologiques tels que le sang,
- les risques liés aux agents infectieux rencontrés en mission ne sont pas traités dans ce document.

Nous avons souhaité créer un document utile, utilisable et utilisé par le plus grand nombre dans les laboratoires.

Le cahier de prévention comporte deux parties :

- le corps du document dans lequel seront présentés la définition et le classement des agents biologiques, les voies de pénétration et les principes généraux de prévention,
- des fiches 1 à 16, traitant de certains cas particuliers : OGM, végétaux, animaux, confinements...

Réglementation applicable

La réglementation de portée générale (décret n° 94-352 du 04 mai 1994) sur la prévention des travailleurs contre les risques résultant de leur exposition à des agents biologiques pathogènes, est récente comparée à d'autres risques (1986 pour les rayonnements ionisants) et est limitée aux micro-organismes, cultures cellulaires et aux endoparasites humains susceptibles de provoquer une infection, une allergie ou une intoxication.

Avec la publication de ce décret, le risque biologique est désormais pris en compte de manière spécifique dans le Code du travail (articles R. 231-60 à R. 231-65-3).

Ce décret est la transposition française de la directive 90/679/CEE du Conseil du 26 novembre 1990, modifiée¹.

Ce texte définit les agents biologiques et leur classement en quatre groupes selon la gravité des risques d'infection. Il fixe des mesures d'évaluation et de prévention du risque biologique ainsi que diverses dispositions concernant la formation, l'information et la surveillance médicale des travailleurs exposés aux agents biologiques pathogènes.

3.1

Champ d'application

Cette réglementation est applicable aux établissements mentionnés à l'article L. 231-1 du Code du travail (établissements publics, d'enseignement professionnel ou technique ainsi que les offices publics ou ministériels, les établissements de la fonction publique hospitalière...), dans lesquels la nature de l'activité peut conduire à exposer les travailleurs à des agents biologiques.

3.2

Rappel : l'évaluation du risque biologique

Le chef d'établissement doit déterminer la nature, la durée et les conditions de l'exposition des travailleurs afin d'évaluer les risques pour la santé et de pouvoir définir les mesures de prévention à mettre en œuvre.

Les éléments ayant servi à cette évaluation doivent être tenus à la disposition des différents services de prévention.

L'évaluation est réalisée notamment sur la base :

- du classement des agents biologiques,
- des informations sur les maladies professionnelles,
- des effets allergisants et toxiques pouvant être liés à l'exposition aux agents biologiques.

Il sera également tenu compte des dangers constitués par des micro-organismes pathogènes pouvant être présents chez les animaux ou dans des échantillons d'origine végétale, animale ou humaine et déchets qui en sont issus.

¹ Modifiée par : Directive du Conseil n° 93/88/CE du 12 octobre 1993 (JOCE n° L 268 du 29 oct. 1993), Directive de la Commission n° 95/30/CE du 30 juin 1995 (JOCE n° L 155 du 6 juill. 1995), Directive de la Commission n° 97/59/CE du 7 octobre 1997 (JOCE n° L 282 du 15 oct. 1997), Directive de la Commission n° 97/65/CE du 26 novembre 1997 (JOCE n° L 335 du 6 déc. 1997).

4.1 Généralités

4.1.1 Définitions ²

- **Agents biologiques** : les micro-organismes, y compris les micro-organismes génétiquement modifiés, les cultures cellulaires et les endoparasites humains susceptibles de provoquer une infection, une allergie ou une intoxication.
- **Micro-organisme** : une entité microbiologique, cellulaire ou non, capable de se reproduire ou de transférer du matériel génétique.
- **Culture cellulaire** : le résultat de la croissance in vitro de cellules isolées d'organismes multicellulaires.

4.1.2 Classement des agents biologiques ³

□ Les micro-organismes naturels

Ils sont répartis en quatre groupes suivant leur pathogénicité et l'existence ou non d'une prophylaxie ou d'un traitement efficace.

■ Groupes de risques : du plus faible (1) au plus important (4)

1. N'est pas susceptible de provoquer une maladie chez l'homme,
2. Peut provoquer des maladies chez l'homme, mais la propagation est peu probable. Des traitements ou (et) des prophylaxies existent pour lutter contre,
3. Est pathogène pour l'homme et la propagation est possible, mais des traitements ou (et) des prophylaxies existent généralement,
4. Cause de maladies graves chez l'homme, risque de propagation élevé, et il n'existe pas de moyen prophylactique, ni de traitement efficace.

Ce classement concerne les bactéries, les virus, les parasites et les champignons (rf Annexe 1). Il est mis à jour régulièrement.

Les prions sont inclus depuis peu dans le classement des agents pathogènes, dans la liste des virus sous une rubrique " Agents non classiques associés avec les encéphalopathies spongiformes transmissibles (EST) ". Ils font partie du groupe de risque 3, sans transmission par voie aérienne.

4.1.3 Cas particuliers

□ Les Organismes Génétiquement Modifiés (OGM) ⁴

Ce sont des organismes dont le matériel génétique a été modifié autrement que par multiplication ou recombinaison naturelle.

Les OGM sont classés en fonction de leur pathogénicité pour l'homme comme les micro-organismes naturels.

- **Groupe I** : organismes non pathogènes de classe 1 pour lesquels la nature du vecteur ou la séquence clonée ne justifient pas une modification de classe de risque,
- **Groupe II** : OGM autres que les précédents, de classes de risque 2, 3 ou 4.

² Code du travail Article R.231-61

³ selon la Directive n° 2000/54/CE du Parlement Européen et du Conseil du 18 septembre 2000 concernant la protection des travailleurs contre les risques liés à l'exposition à des agents biologiques au travail (septième directive particulière au sens de l'article 16, paragraphe 1, de la directive 89/391/CEE).

L'évaluation des risques liés aux micro-organismes génétiquement modifiés et la proposition des niveaux de confinements adaptés sont réalisées par le directeur des travaux de recherche. La Commission de génie génétique (CGG), dont la mission est définie dans la loi n° 92-654 du 13 juillet 1992 relative au contrôle de l'utilisation et de la dissémination des organismes génétiquement modifiés, donne un avis sur cette évaluation et précise les conditions de travail.

Les critères d'évaluation sont détaillés dans la fiche 1.

Le site de la CGG est : <http://www.recherche.gouv.fr/comis/genetique/default.htm>.

□ **Les cultures cellulaires**

Le risque peut provenir des cellules mais également des techniques liées à leur culture (milieu, immortalisation, quantités utilisées...).

Le risque présenté par les cultures primaires est très comparable à celui des échantillons biologiques : un exemple est le risque lié à la présence de micro-organismes pathogènes contaminants.

Le risque des lignées est celui d'une réimplantation accidentelle chez le manipulateur induisant ainsi le développement d'une tumeur.

Les critères essentiels d'évaluation du risque sont la distance phylogénétique, la vitesse de division et le mode d'immortalisation (voir fiche 2).

□ **Les échantillons biologiques humains**

Les critères d'évaluation du risque sont :

- la nature du matériel biologique (sang, salive, urine...),
- la présence ou non d'un ou plusieurs agents pathogènes.

Les échantillons provenant de donneurs sains peuvent malgré tout être porteurs de micro-organismes pathogènes pour le manipulateur (Herpès...).

Recommandations importantes :

- Tout matériel d'origine humaine doit être considéré comme potentiellement dangereux et manipulé avec les protections individuelles appropriées (blouse, gants...) et sous PSM de type II. En effet, les tests de dépistage réalisés sur ce type de matériel avant expérimentation ne concernent que certains agents pathogènes : VIH, VHB, VHC. De plus, le dépistage n'est pas toujours possible ou est connu trop tardivement (manipulation déjà effectuée).

- L'expérimentation sur du matériel humain prélevé sur soi-même ou ses collègues est à proscrire car il existe un risque de réimplantation accidentelle après transformation de celui-ci. A ce risque s'ajoutent des problèmes liés à l'éthique (non-anonymat du donneur, apparition a posteriori d'une maladie transmissible chez le donneur...).

□ **Les animaux**

■ **On distingue les animaux :**

- conventionnels qui peuvent être porteurs de n'importe quel micro-organisme, pathogène ou non,
 - exempts d'organismes pathogènes spécifiques (EOPS) pour l'espèce considérée,
 - génotoxéniques, c'est à dire abritant une certaine flore connue, et exclusivement celle-là,
 - mutants (exemple : souris nude),
 - transgéniques, c'est à dire abritant des fragments d'ADN étranger dans toutes leurs cellules.
- Le classement des animaux dépend de l'agent contaminant.

⁴ Directive du Conseil n° 90/219/CEE du 23 avril 1990 relative à l'utilisation confinée de micro-organismes génétiquement modifiés [Directive modifiée par la Directive du Conseil n° 98/81/CE du 26 octobre 1998 - JOCEL 330 du 5 déc. 1998 et la Décision du Conseil n° 2001/204/CE, 8 mars 2001 - JOCE n° L 73, 15 mars 2001].

Les risques présentés par les animaux peuvent être classés en deux groupes :

- ceux dus aux animaux eux-mêmes (zoonoses),
- ceux résultant de l'expérimentation entreprise sur ces animaux : contamination volontaire, transfert de gènes...

Les micro-organismes portés par les animaux peuvent être présents dans leur salive, sang, urines, matières fécales, air expiré, différents organes ainsi que dans les litières.

Le risque infectieux est le risque majeur. Il peut provenir soit de la dispersion du germe étudié (virus ou bactérie), soit de l'animal malade ou porteur sain d'un germe transmissible à l'homme.

■ **Cas des animaux transgéniques :**

Classe 1 :

- animaux abritant un gène ne leur conférant aucun effet nuisible connu pour l'homme ou l'environnement,
- animaux ne relarguant jamais de particules virales,
- animaux susceptibles de relarguer des particules virales de classe 1.

Classe 2 :

- animaux abritant un gène mobilisable ayant un effet nuisible pour l'homme ou l'environnement (animaux abritant un gène de prion, un gène codant pour un récepteur de virus...) ou leur conférant un effet nuisible pour l'homme ou l'environnement,
- animaux susceptibles de relarguer des particules virales de classe 2.

Classe 3 :

- animaux susceptibles de relarguer des particules virales de classe 3 ou abritant un gène de prion muté dans une position associée à une pathogénicité chez l'homme.

Classe 4 :

- animaux susceptibles de relarguer des particules virales de classe 4.

La transgénèse est applicable à toutes les espèces animales. Il faudra donc prendre en considération toutes les situations qui peuvent se rencontrer et qui sont différentes selon le mode de vie des animaux. L'évaluation du risque et la définition du confinement seront faites au cas par cas en fonction de l'espèce considérée.

Les règles à respecter concernant ces animaux sont détaillées dans le guide intégralement disponible sur Internet à l'adresse suivante : <http://www.cnrs.fr/SDV/expanimogm.html>.

□ **Les végétaux**

Le premier risque pour l'homme est le risque d'allergie (aux pollens notamment).

Il existe également des possibilités d'effets toxiques liés au contact direct avec des végétaux.

Dans le domaine des recherches sur les interactions hôtes/parasites, les tests de sensibilité/résistance aux agents pathogènes sont fréquents et ils posent, indépendamment de la transgénèse, le problème de la multiplication et de l'éventuelle dissémination de l'agent pathogène utilisé comme test. Les précautions à prendre dépendront des modes de dissémination de cet agent.

D'autre part, le transfert de gènes chez les plantes repose très souvent sur l'utilisation de bactéries du sol, les agrobactéries, qui peuvent elles-mêmes être phytopathogènes.

Par conséquent, chaque étude devra prendre en compte à la fois les risques potentiels pour les manipulateurs et également pour l'environnement au sens large.

Un classement des risques existe, basé sur la pathogénicité des plantes vis à vis d'elles-mêmes et non vis à vis de l'homme :

Classe EP1 :

Micro-organismes qui peuvent être pathogènes pour les plantes mais ne présentant pas de risques d'épidémie en cas de dissémination dans l'environnement.

Classe EP2 :

Micro-organismes connus pour causer des épidémies dans les cultures, sur les arbres d'importance économique ou sur les plantes d'ornement présentes dans la région où est conduite l'expérimentation ou toute plante appartenant à la flore spontanée de cette région.

Classe EP3 :

Micro-organismes ayant un fort pouvoir pathogène et provoquant des épidémies. Ces micro-organismes sont normalement soumis à une quarantaine.

□ **Les eaux usées des stations d'épuration et boues de traitement**

L'eau est susceptible de véhiculer des impuretés biologiques (micro-organismes...) et chimiques (ions métalliques, nitrates, hydrocarbures et autres solvants...) sous forme solide, liquide ou gazeuse.

Le souci de la protection des agents exposés à des eaux usées en est le corollaire.

Il existe un risque :

établi pour :

- VHA,
- *Leptospira*,
- protozoaires et particulièrement Giardia.

possible pour :

- des virus des gastro-entérites (*Rotavirus*, *Calicivirus*...),
- *Clostridium tetani*,
- helminthes, notamment *Trichuris trichuria* (trichocéphale), *Ascaris lumbricoïdes* (ascaris), *Enterobius vermicularis* (oxyure).

peu probable pour :

- VHB, VHC (sauf près des grilles dans les stations d'épuration en raison de la présence de seringues pouvant être souillées),
- VHE,
- *Salmonella*, *Escherichia coli* et la plupart des Entérobactéries en général, excepté *Shigella* en raison de la faible valeur de la DMI (dose minimale infectante) pour cette bactérie.

En raison de ces différents risques, en complément des bonnes pratiques de laboratoire, il faudra porter systématiquement des gants et un masque adaptés.

4.1.4

Les voies de pénétration dans l'organisme

□ **Voie aérienne**

Principale voie d'entrée, mais également la plus insidieuse, elle se fait par inhalation d'aérosols créés au cours des manipulations.

Exemples :

- ouverture de tubes immédiatement après centrifugation,
- passage à la flamme d'anse de platine,
- remise en suspension par aspirations et refoulements successifs trop violents,
- manipulation des litières...

□ Voie digestive

Les interdictions de pipeter à la bouche, de boire, de manger et de fumer dans les laboratoires ont considérablement diminué le risque de contamination par ingestion.

Cependant, le non respect des règles élémentaires d'hygiène (porter ses mains à la bouche sans les avoir lavées, sucer un stylo...) constitue encore un risque non négligeable.

□ Voies cutanée et oculaire

La contamination peut se faire par projection dans l'œil ou sur peau saine et surtout lésée, mais également suite à une piqûre, coupure, morsure, griffure.

4.2

Principes généraux de prévention ⁵

4.2.1

Formation à la sécurité et information des travailleurs ⁶

Une formation doit être dispensée avant que les travailleurs n'exercent une activité impliquant un contact avec des agents biologiques. Cette formation à la sécurité concerne :

- les risques pour la santé et les prescriptions en matière d'hygiène,
- les précautions à prendre pour éviter l'exposition (bonnes pratiques de laboratoire, protections collectives...),
- le port et l'utilisation des équipements et des vêtements de protection individuelle,
- les modalités de tri, de collecte, de stockage, de transport et d'élimination des déchets,
- les mesures que les travailleurs doivent prendre pour prévenir les incidents et les accidents (cahier de laboratoire, procédures de travail, consignes...),
- la procédure à suivre en cas d'accident.

La formation à la sécurité doit être répétée régulièrement et adaptée à l'évolution des risques.

De plus, des formations spécifiques à certains postes de travail sont obligatoires (conduite d'autoclaves, animalier...).

4.2.2

Prévention médicale ⁷

Les maladies professionnelles en rapport avec les agents biologiques sont diverses :

- la tuberculose (contamination aérienne par le bacille de Koch),
- les hépatites (contamination sanguine par les virus de l'hépatite B ou C après piqûre ou projection sur les muqueuses),
- la maladie de Chagas (contamination sanguine par le parasite *Trypanosoma Cruzi* après piqûre)...

La surveillance médicale du personnel exposé est obligatoire selon un rythme de visites médicales au minimum annuel. Dans certains cas particuliers, des examens cliniques complémentaires peuvent être prescrits.

En cas de suspicion de contamination ou de maladie professionnelle, l'ensemble du personnel susceptible d'avoir été exposé au même risque devra prendre contact avec le médecin de prévention.

⁵ Articles R 231-60 à R 231-65 du code du Travail.

⁶ Article R 231-63 à R 231-63-4 du code du Travail.

⁷ Article R 231-65 à R 231-65-3 du code du Travail

Les femmes enceintes ou en âge de procréer doivent prendre contact avec leur médecin de prévention. L'étude du poste de travail est particulièrement importante au cours de la grossesse du fait de la sensibilité accrue à de nombreux germes (comme la listériose) et à leurs toxines (passage des agents pathogènes du sang maternel à l'embryon ou au fœtus).

L'avis d'aptitude prononcé par le médecin de prévention va tenir compte de l'importance du risque, des moyens de prévention collectifs et individuels mis en place, de l'état de santé de l'agent et de son état immunitaire.

La vaccination sera recommandée chaque fois qu'elle constitue un acte efficace et sans danger pouvant prévenir une maladie grave d'origine professionnelle.

Tout agent refusant une vaccination pourra être déclaré inapte à la manipulation de l'agent biologique concerné.

4.2.3

Les confinements ⁸

La connaissance des agents biologiques et de leur classement conditionne les règles de prévention.

□ **Locaux de confinement ou niveaux de sécurité biologique (N.S.B.)**

Les niveaux de confinement correspondent à chacun des groupes de risques :

Groupe 1	Laboratoire L1	Animalerie A1	Serre S1
Groupe 2	Laboratoire L2	Animalerie A2	Serre S2
Groupe 3	Laboratoire L3	Animalerie A3	Serre S3
Groupe 4*	Laboratoire L4	Animalerie A4	Serre S4

*groupe non représenté au CNRS et non traité dans ce document.

□ **Niveau 1**

Il correspond à un aménagement standard (voir fiches 3, 7 et 10).

□ **Mesures spécifiques pour les niveaux 2 et 3**

■ **Entretien des locaux**

Toute intervention de personnel extérieur (plombier, peintre, entreprise de maintenance...) doit être réalisée en dehors des périodes d'activité et après décontamination des locaux. Le responsable du laboratoire doit s'assurer que ces personnels ont été informés des risques et connaissent les locaux. Il rédigera avec le représentant de l'entreprise extérieure un plan de prévention.

Le ménage doit être effectué par les agents de l'unité.

■ **Maintenance des équipements et des matériels**

Des contrats annuels de maintenance doivent être établis pour tous les équipements : installations de climatisation et de traitement d'air, poste de sécurité microbiologique... Ces contrats préciseront notamment les consignes d'intervention et d'accès aux installations ainsi que les délais d'intervention pour les dépannages (exemple pour un niveau de confinement 3 : délai de 2 heures, 24H/24, 365 jours par an).

Les visites réglementaires éventuelles doivent être exécutées par un organisme agréé (contrôle des autoclaves, vérifications électriques...).

Pour le niveau 3, le contrat de maintenance des installations techniques doit prévoir au minimum une intervention avec un arrêt technique annuel ainsi qu'une intervention mensuelle de maintenance préventive. Dans ce cadre, le prestataire fournira au responsable des installations un rapport semestriel détaillé de suivi de la maintenance (préventif, correctif, améliorations souhaitables).

⁸ Arrêté du 13 août 1996 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 (JO du 7 septembre 1996).

Il est vivement recommandé d'avoir en stock un double des pièces détachées (filtres compris) nécessaires au bon fonctionnement du laboratoire, de manière à pouvoir intervenir sans délai en cas de panne.

Les aménagements nécessaires à ces deux niveaux sont détaillés dans les fiches 4, 5, 8, 9, 11 et 12.

Les postes de sécurité microbiologique : choix et utilisation

Parmi les différents types d'enceintes utilisées dans nos laboratoires, toutes ne sont pas classées pour la protection du manipulateur.

Protection selon le type d'enceinte

Type d'enceinte	Manipulation	Manipulateur	Environnement
Sorbonne	Aucune	Inadaptée	Aucune
Flux horizontal	Bonne	Aucune	Aucune
Flux vertical en surpression à recyclage partiel	Bonne	Aucune	Aucune
Flux vertical en surpression à recyclage total	Bonne	Faible	Faible
PSM I à flux d'air à extraction totale	Aucune	Bonne	Bonne
PSM I à filtre à charbon actif	Aucune	Bonne	Bonne
PSM II	Bonne	Bonne	Bonne
PSM III (enceinte fermée en dépression)	Bonne	Bonne	Bonne

Seuls les Postes de Sécurité Microbiologique (PSM), utilisés dans les conditions requises, assurent la protection de l'opérateur et de l'environnement contre les dangers liés aux aérosols dans la manipulation de substances biologiquement actives, infectées ou dangereuses. Par contre, ils ne sont pas conçus pour assurer une protection contre les risques chimiques ou radioactifs.

Il existe trois types de PSM en fonction des objectifs de protection souhaités (voir fiche 6):

Nature de la protection	Type de PSM	TYPE I	TYPE II	TYPE III
Du manipulateur		Par la création d'un flux d'air entrant dans l'enceinte	Par une aspiration créée au bord avant du plan de travail (barrière immatérielle entre lui et le produit manipulé)	Par une paroi matérielle (le produit est manipulé par l'intermédiaire de manchons souples terminés par des gants)
De l'environnement		Par filtration de l'air de l'enceinte à travers un filtre à très haute efficacité	Par filtration de l'air de l'enceinte à travers un filtre à très haute efficacité	Par filtration de l'air de l'enceinte à travers deux filtres en série à très haute efficacité
Du produit manipulé		Non protégé puisqu'en contact avec l'air du laboratoire	Par un flux d'air descendant préalablement filtré à travers un filtre à très haute efficacité	Par absence de contact avec l'air du laboratoire.

Caractéristiques des PSM

Sur un PSM de type II, bien que le marquage " CE " soit obligatoire, seule la certification NF garantit l'efficacité.

Les modèles à deux ventilateurs (type II B) apportent une sécurité supplémentaire en cas de panne ou en début de colmatage d'un des filtres.

Le plan de travail plein est préconisé car il offre une meilleure stabilité et est plus facile à nettoyer et à décontaminer. La largeur des plans de travail doit être de 0,90m ou de 1,20m pour n'autoriser le travail que d'un seul manipulateur à la fois.

Les raccords de gaz et l'emploi des becs Bunsen dans l'enceinte des PSM sont à proscrire, car le cône de chaleur de la flamme provoque des turbulences et endommage le filtre HEPA placé au-dessus.

Le niveau sonore doit être le plus bas possible.

Le niveau d'éclairement du plan de travail doit être au minimum de 400 lux.

Installation et implantation

Le poste doit être installé à l'abri des courants d'air et d'obstacles au flux de rejet, loin des ouvertures ou d'un lieu de passage fréquent.

Les raccordements de PSM entre eux sont vivement déconseillés car ils altèrent l'efficacité requise de la veine de garde.

Les lampes à UV sont déconseillées pour les raisons suivantes :

- durée de vie courte,
- inefficacité sur certains matériels biologiques,
- risque pour le manipulateur en cas d'oubli.

Maintenance

Les opérations d'entretien doivent être réalisées par un spécialiste (contrat d'entretien pour les opérations sur les filtres). Chaque intervention sera précédée d'une décontamination (voir la fiche 15 " décontamination / désinfection / stérilisation ").

Les filtres HEPA doivent être changés par un technicien agréé (société spécialisée dans l'entretien de salle blanche et de PSM) en respectant le type de filtre HEPA conseillé par le fabricant.

Les filtres sont considérés comme des déchets biologiques et doivent être traités comme tels (voir la fiche 16 " déchets ").

□ **Contrôles des performances**

Les contrôles portent sur l'intégrité des filtres HEPA, l'efficacité de la veine de garde et la laminarité du flux. Les postes de sécurité sont testés en usine avant livraison. Cependant, à l'installation, le fournisseur effectue un contrôle donnant lieu à la remise d'un rapport.

Un contrôle périodique de l'appareil doit être effectué une fois par an au minimum.

Un contrôle sera également effectué après chaque changement de filtre et après toute manutention du poste de sécurité (déménagement...).

Les dates de contrôles sont à afficher sur le PSM.

□ **Conseils d'utilisation**

- travailler toujours seul, quelle que soit la taille du plan de travail,
- ne placer sur le plan de travail que le matériel nécessaire à la manipulation,
- allumer le PSM entre 5 et 15 minutes avant utilisation et selon les recommandations du fabricant,
- ne pas arrêter et remettre en marche la hotte d'une manière trop fréquente,
- interdire l'emploi de source de chaleur, en particulier de bec Bunsen
- ne pas introduire d'objet poussiéreux (pour éviter le colmatage du filtre),
- maintenir propre la zone stérile. La nettoyer avec du papier imbibé d'un désinfectant approprié avant et après chaque utilisation,
- procéder à la désinfection du plan de travail, PSM maintenu en marche,
- ne pas effectuer de mouvements rapides à l'intérieur de l'enceinte stérile pendant le fonctionnement,
- ne pas tousser, ni éternuer en direction de la zone stérile,
- ne pas projeter de liquide ou de solide sur la face interne du filtre,
- manipuler les filtres avec des moyens de protection individuelle adéquats.

4.2.5

Les bonnes pratiques de laboratoire (BPL) et les équipements de protection individuelle (EPI)

Il est indispensable d'intégrer la prévention dans le choix du protocole de manipulation (choix des produits, réduction des quantités, confinement, choix du matériel ainsi que des protections collectives et individuelles).

Il est également nécessaire d'acquérir une gestuelle bien maîtrisée.

Il faut éviter tout particulièrement la création d'aérosols (centrifugation, flambage, agitations, sonications...) en manipulant au calme et en milieu confiné.

Il faut utiliser des méthodes de désinfection validées et des filières réglementaires d'élimination des déchets.

Le détail des BPL et des EPI figure au cas par cas en fonction des niveaux de risques sur les fiches 3 , 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11 et 12.

Décontamination / désinfection / stérilisation

Les méthodes de désinfection sont variées. A chaque type de matériel ou substrat (verrerie réutilisable, paillasses, pipettes automatiques, surfaces peu accessibles, litières, milieux de culture...) correspond une méthode adaptée de désinfection. Selon les caractéristiques de certains matériels et leur utilisation, des précautions particulières sont à observer.

L'**antiseptie** et la **désinfection** sont des opérations permettant d'éliminer ou de tuer les micro-organismes ou d'inactiver les virus. L'antiseptie agit à la surface ou à l'intérieur des organismes vivants, alors que la désinfection agit sur un milieu inerte.

L'action du désinfectant est momentanée. Il peut être actif sur une ou plusieurs catégories de micro-organismes : bactéries (bactéricide), virus (virucide) et champignon (fongicide).

Il implique un nettoyage préalable.

La **décontamination** provoque une réduction ou une élimination du nombre de germes présents sur le matériel. Elle est nécessaire avant le nettoyage d'instruments souillés.

La **stérilité** est un état d'un produit, d'un fluide ou d'un local dans lequel aucun micro-organisme n'est mis en évidence.

La **stérilisation** est un ensemble de moyens tendant à obtenir la stérilité ou l'abaissement du degré de contamination à un niveau acceptable.

L'activité anti-microbienne dépend de la concentration du produit, de la température d'utilisation, de la durée de contact, et du pH.

Certaines formulations chimiques ont à la fois une action antiseptique et une propriété désinfectante, selon leur concentration, ou par association avec des agents nettoyants ou adjuvants particuliers (voir fiche15).

Les déchets ⁹

La gestion des déchets biologiques implique le respect des mêmes conditions de manipulation et de confinement que la mise en œuvre des agents biologiques qui les ont générés. Les traitements et filières d'élimination sont différents selon la nature des déchets mais aussi fonction de la quantité (exemple, petits animaux ou lots d'animaux supérieurs à 40 kilos).

Le temps autorisé de stockage entre leur production et leur élimination prend en compte la quantité de déchets produits.

De plus, il faut tenir compte de l'impact psychologique lié à l'élimination de certains déchets : par exemple, les pièces anatomiques seront traitées de manière différente selon qu'elles sont reconnaissables ou pas.

Les procédures de gestion des déchets devront faire l'objet de protocoles écrits. Pour plus de précisions voir la fiche 16. D'autre part, un référentiel déchet complet est disponible sur Internet à l'adresse suivante: <http://www.sg.cnrs.fr/ighs/default.htm>.

⁹ loi n° 75-633 du 15 juillet 1975. Décret n° 97-517, 15 mai 1997 relatif à la classification des déchets dangereux (JO du 23 mai). Décret n° 97-1048 du 6 novembre 1997 relatif à l'élimination des déchets d'activités de soins à risques infectieux et assimilés et des pièces anatomiques et modifiant le code de la santé publique

Le transport de matériel biologique

Il existe une réglementation spécifique concernant le transport de matières biologiques.

□ Par route ¹⁰

Pour le matériel de classes de risque 1 et 2, nécessité d'avoir un double emballage résistant à la chute et à la compression.

Pour le matériel de classe 3, nécessité d'avoir un triple emballage, plus résistant que le précédent (chute, compression, perforation).

Les emballages primaires et secondaires doivent être étanches et séparés par une quantité suffisante de matériau de rembourrage absorbant. Ces emballages, agréés par le Ministère des Transports, sont disponibles dans le commerce.

L'emballage extérieur doit comporter plusieurs indications :

- une étiquette de risque comportant le sigle " risque biologique ", la mention " matière infectieuse " si c'est le cas, et le nombre 6.2 représentant la classe de danger selon les recommandations de l'ONU, relatives au transport des marchandises dangereuses,
- une étiquette avec l'adresse du destinataire,
- une étiquette indiquant le sens du chargement dans le cas de matériel biologique liquide.

Si le colis contient de la carboglace ou de l'azote liquide, il devra comporter une étiquette supplémentaire avec les sigles spécifiques à ces dangers.

Le colis doit être accompagné d'un document de transport (matériels transportés, nombre, quantité, noms et adresses de l'expéditeur et du destinataire) et d'un autre indiquant les consignes à respecter en cas d'accident.

L'expéditeur doit s'assurer de la compétence du transporteur.

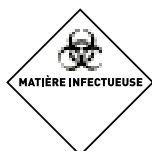
□ Par avion ¹¹

Pour le matériel de classe 1, un double emballage résistant à des tests de dépression est au minimum requis, un triple emballage étant conseillé.

Pour le matériel de classes 2 et 3, un triple emballage est obligatoire.

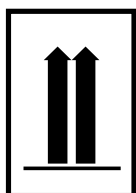
L'étiquetage est le même que pour le transport par route.

□ Etiquetage



Étiquette de risque pour **les matières infectieuses**
et pour **les Organismes Génétiquement Modifiés**

Classe de danger 6.2
Dimensions 100x100mm / noir et blanc
Pour les petits colis 50x50mm



Sens du chargement

Dimensions 74x105mm minimum
Noir et blanc ou rouge et blanc
Pour les petits colis on peut réduire
les dimensions de moitié

¹⁰ Arrêté du 1er juin 2001 dit « arrêté ADR » relatif au transport des marchandises dangereuses par route (JO 30 juin 2001).

¹¹ Arrêté du 5 novembre 1987 modifié par l'arrêté du 12 mai 1997 (JO, 3 juin 1997) (Arr. 5 nov. 1987 : JO, 5 janv. 1988) ; les instructions techniques de l'Organisation de l'aviation civile internationale (OACI), organisation rassemblant les États ; les instructions de l'International Air Transport Association (IATA).

Réglementation

Arrêtés

- Arrêté du 5/04/2002 fixant les conditions sanitaires pour l'importation et le transit des animaux destinés à des établissements d'expérimentation animale, des élevages spécialisés et des établissements fournisseurs.
- Arrêté du 5/04/2002 relatif aux conditions sanitaires d'importation et de transit en France de produits issus d'animaux et d'agents pathogènes, mentionnés à l'article L.236-1 du code rural, destinés exclusivement à un usage technique ou pharmaceutique en provenance de pays tiers.
- Arrêté du 20/04/2000 fixant le modèle de dossier de demande d'autorisation d'activité d'importation et d'exportation, à des fins scientifiques, d'organes, de tissus et de leurs dérivés, et de cellules du corps humain.
- Arrêtés du 17/04/1997 et du 18/07/1994 fixant la liste des agents biologiques pathogènes.
- Arrêté du 13/08/1996 relatif aux mesures techniques de prévention, notamment de confinements 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.
- Arrêté du 19/04/1988 concernant l'autorisation d'expérimenter.

Décrets

- Décrets n° 98-18 du 08/01/1998 et n° 93-774 du 27/03/1993 fixant la liste des techniques de modification génétique et les critères de classement des organismes génétiquement modifiés.
- Décret n° 97-1048 du 06/11/1997 sur l'élimination des déchets d'activité de soins à risques infectieux et assimilés et des pièces anatomiques et modifiant le code de la santé publique.
- Décret n° 96-850 du 20/09/1996 relatif au contrôle de la dissémination et de la mise sur le marché d'organismes génétiquement modifiés.
- Décret n° 95-487 du 28/04/1995 relatif au contrôle et à l'utilisation d'animaux génétiquement modifiés.
- Décret n° 94-352 du 4/05/1994 relatif à la protection des travailleurs contre les risques résultant de leur exposition à des agents biologiques.
- Décret n° 93-352 du 04/05/1994 relatif à la protection des travailleurs contre les risques résultant de leur exposition à des agents biologiques.
- Décret n° 87-848 du 19/10/1987 sur l'autorisation d'expérimenter.
- Décret n° 90-872 du 27/09/1990 concernant la protection des personnes dans la recherche biomédicale : application de la loi Huriet.

Directives

- Directive n° 2000/54/CE du Parlement Européen et du Conseil du 18/09/2000 concernant la protection des travailleurs contre les risques liés à l'exposition à des agents biologiques au travail.
- Directive du parlement européen et du conseil 2001/18/CE du 12/03/2001 relative à la dissémination volontaire d'OGM dans l'environnement, abrogeant la directive n° 90/220/CE.



Lois

- Loi n° 88-1138 du 20/12/1998 modifiée par la loi n° 90-86 du 23/01/1990 et décrets n°90-872 du 27/09/1990 sur la protection des personnes dans la recherche biomédicale : application de la loi Huriot.
- Loi n° 92654 du 13/07/1992 sur l'utilisation des OGM.



Circulaires

- Circulaire DGS/5C/DHOS/E2 du 14/ 03/2001 relative aux précautions à observer lors de soins en vue de réduire les risques de transmission d'agents transmissibles non conventionnels.
- Circulaire ministérielle du 16/04/1996 sur l'utilisation d'organismes génétiquement modifiés à des fins de recherche, de développement ou d'enseignement.
- Circulaires DGS/100 du 11/12/1995 concernant les précautions à observer en milieu chirurgical et anatomopathologique face aux risques de transmission de la maladie de Creutzfeldt-Jakob.



Normes

- Normes européenne NF EN 12128 et française NF X 42-206 de 06/1998. Biotechnologie - Laboratoires de recherche, de développement et d'analyse - Niveaux de confinement des laboratoires de microbiologie, zones à risque, situations et exigences physiques de sécurité.
- Norme européenne NF EN 12469 de 07/2000. Biotechnologie - Critères de performance pour les postes de sécurité microbiologique.

Ouvrages

- Les méthodes de mesure de la protection des PSM de type II, état actuel, perspectives, J-C. Cornu, INRS n° 98-18, nov. 1998.
- L'agent de laverie des laboratoires de recherche, A. Brun et J. Bielakoff, édition INSERM 1997.
- L'animalier des laboratoires de recherche publiés, J. Bielakoff et A. Brun, INSERM, 1994.
- Principes de classement et guide officiel de la commission de génie génétique, édition avril 2000.
- Risques biologiques – Prévention en laboratoire de recherche, J. Simons, P. Sotty, Editions CNRS – INRA – INSERM, 1991.
- Gestion des déchets - Guide pour les établissements publics d'enseignement supérieur ou de recherche, Editions CNRS- INRA – INSERM – Ministère de l'éducation nationale, 2002.
- Virus, produits antiseptiques et désinfectants – la norme et ses limites, Dossier médico-technique 86 TC 82, INRS, 2001.
- Risques infectieux liés à la maintenance et à la manipulation des animaux de laboratoire pour le personnel travaillant dans les animaleries, N. Blanchin, G. Abadia, A. Leprince, Dossier médico-technique 53 TC 44, INRS, 1993.

Lexique

- **ADN** : acide désoxyribonucléique
- **BPL** : bonnes pratiques de laboratoire
- **CE** : label de certification " conformité européenne "
- **DAS** : déchets d'activité de soins ; -RI : à risques infectieux
- **DIB** : déchet industriel banal
- **EOPS** : exempt d'organismes pathogènes spécifiques
- **EPI** : équipement de protection individuel
- **ESB** : encéphalite spongiforme bovine
- **HEPA** : " high efficiency-particulate-air " ; filtre à très haute efficacité
- **LCR** : liquide céphalo-rachidien
- **OGM** : organisme génétiquement modifié
- **PCR** : polymerase chain reaction, technique d'amplification d'ADN
- **PrP et prp** : protéine caractéristique de l'ESB et son gène codant
- **PSM** : poste de sécurité microbiologique
- **U V** : ultraviolet
- **VHA, VHB, VHC, VHE** : virus des hépatites de type A, B, C, E
- **VIH** : virus du syndrome de l'immuno-déficience acquise humaine

ANNEXE 1

Classement des micro-organismes

Directive 2000/54/CE du parlement européen et du conseil du 18 septembre 2000 concernant la protection des travailleurs contre les risques liés à l'exposition à des agents biologiques au travail

Tableau A – les bactéries

Agent biologique	Classification	Notes
Actinobacillus actinomycetemcomitans	2	
Actinomadura madurae	2	
Actinomadura pelletieri	2	
Actinomyces gerenceserae	2	
Actinomyces israelii	2	
Actinomyces pyogenes	2	
Actinomyces spp.	2	
Arcanobacterium haemolyticum [Corynebacterium haemolyticum]	2	
Bacillus anthracis	3	
Bacteroides fragilis	2	
Bartonella bacilliformis	2	
Bartonella quintana [Rochalimaea quintana]	2	
Bartonella [Rochalimaea] spp.	2	
Bordetella bronchiseptica	2	
Bordetella parapertussis	2	
Bordetella pertussis	2	V
Borrelia burgdorferi	2	
Borrelia duttonii	2	
Borrelia recurrentis	2	
Borrelia spp.	2	
Brucella abortus	3	
Brucella canis	3	
Brucella melitensis	3	
Brucella suis	3	
Burkholderia mallei [Pseudomonas mallei]	3	
Burkholderia pseudomallei [Pseudomonas pseudomallei]	3	
Campylobacter fetus	2	
Campylobacter jejuni	2	
Campylobacter spp.	2	
Cardiobacterium hominis	2	
Chlamydia pneumoniae	2	
Chlamydia trachomatis	2	
Chlamydia psittaci [souches aviaires]	2	
Chlamydia psittaci [souches non aviaires]	3	
Clostridium botulinum	2	T
Clostridium perfringens	2	
Clostridium tetani	2	T, V
Clostridium spp.	2	

Agent biologique	Classification	Notes
Corynebacterium diphtheriae	2	T, V
Corynebacterium minutissimum	2	
Corynebacterium pseudotuberculosis	2	
Corynebacterium spp.	2	
Coxiella burnetii	3	
Edwardsiella tarda	2	
Ehrlichia sennetsu [Rickettsia sennetsu]	2	
Ehrlichia spp.	2	
Eikenella corrodens	2	
Enterobacter aerogenes/cloacae	2	
Enterobacter spp.	2	
Enterococcus spp.	2	
Erysipelothrix rhusiopathiae	2	
Escherichia coli (à l'exception des souches non pathogènes)	2	
Escherichia coli, souches cytotoxiques (par exemple, 0157:H7 ou 013)	3 (**)	T
Flavobacterium meningosepticum	2	
Fluoribacter bohemiac [Legionella]	2	
Francisella tularensis (type A)	3	
Francisella tularensis (type B)	2	
Fusobacterium necrophorum	2	
Gardnerella vaginalis	2	
Haemophilus ducreyi	2	
Haemophilus influenzae	2	
Haemophilus spp.	2	
Helicobacter pylori	2	
Klebsiella oxytoca	2	
Klebsiella pneumoniae	2	
Klebsiella spp.	2	
Legionella pneumophila	2	
Legionella spp.	2	
Leptospira interrogans [tous sérotypes]	2	
Listeria monocytogenes	2	
Listeria ivanovii	2	
Morganella morganii	2	
Mycobacterium africanum	3	V
Mycobacterium avium/intracellulare	2	

Agent biologique	Classification	Notes
<i>Mycobacterium bovis</i> (à l'exception de la souche BCG)	3	V
<i>Mycobacterium chelonae</i>	2	
<i>Mycobacterium fortuitum</i>	2	
<i>Mycobacterium kansasii</i>	2	
<i>Mycobacterium leprae</i>	3	
<i>Mycobacterium mageritense</i>	2	
<i>Mycobacterium marinum</i>	2	
<i>Mycobacterium microti</i>	3 (**)	
<i>Mycobacterium paratuberculosis</i>	2	
<i>Mycobacterium scrofulaceum</i>	2	
<i>Mycobacterium simiae</i>	2	
<i>Mycobacterium szulgai</i>	2	
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	3	V
<i>Mycobacterium ulcerans</i>	3 (**)	
<i>Mycobacterium xenopi</i>	2	
<i>Mycoplasma caviae</i>	2	
<i>Mycoplasma hominis</i>	2	
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	2	
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	2	
<i>Neisseria meningitidis</i>	2	V
<i>Nocardia asteroides</i>	2	
<i>Nocardia brasiliensis</i>	2	
<i>Nocardia farcinica</i>	2	
<i>Nocardia nova</i>	2	
<i>Nocardia otitidiscavium</i>	2	
<i>Pasteurella multocida</i>	2	
<i>Pasteurella</i> spp.	2	
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	2	
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	2	
<i>Porphyromonas</i> spp.	2	
<i>Prevotella</i> spp.	2	
<i>Proteus mirabilis</i>	2	
<i>Proteus penneri</i>	2	
<i>Proteus vulgaris</i>	2	
<i>Providencia alcalifaciens</i>	2	
<i>Providencia rettgeri</i>	2	
<i>Providencia</i> spp.	2	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	
<i>Rhodococcus equi</i>	2	

Agent biologique	Classification	Notes
<i>Rickettsia akari</i>	3 (**)	
<i>Rickettsia canada</i>	3 (**)	
<i>Rickettsia conorii</i>	3	
<i>Rickettsia montana</i>	3 (**)	
<i>Rickettsia typhi</i> (<i>Rickettsia mooseri</i>)	3	
<i>Rickettsia prowazekii</i>	3	
<i>Rickettsia rickettsii</i>	3	
<i>Rickettsia tsutsugamushi</i>	3	
<i>Rickettsia</i> spp.	2	
<i>Salmonella arizonae</i>	2	
<i>Salmonella enteritidis</i>	2	
<i>Salmonella typhimurium</i>	2	
<i>Salmonella paratyphi</i> A, B, C	2	V
<i>Salmonella typhi</i>	3 (**)	V
<i>Salmonella</i> (autres variétés sérologiques)	2	
<i>Serpulina</i> spp.	2	
<i>Shigella boydii</i>	2	
<i>Shigella dysenteriae</i> (type 1)	3 (**)	T
<i>Shigella dysenteriae</i> (autre que le type 1)	2	
<i>Shigella flexneri</i>	2	
<i>Shigella sonnei</i>	2	
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	
<i>Streptobacillus moniliformis</i>	2	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2	
<i>Streptococcus pyogenes</i>	2	
<i>Streptococcus suis</i>	2	
<i>Streptococcus</i> spp.	2	
<i>Treponema carateum</i>	2	
<i>Treponema pallidum</i>	2	
<i>Treponema pertenue</i>	2	
<i>Treponema</i> spp.	2	
<i>Vibrio cholerae</i> (y inclus El Tor)	2	
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	2	
<i>Vibrio</i> spp.	2	
<i>Yersinia enterocolitica</i>	2	
<i>Yersinia pestis</i>	3	V
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	2	
<i>Yersinia</i> spp.	2	

Tableau B – les virus

Agent biologique	Classification	Notes
<i>Adenoviridae</i>	2	
<i>Arenaviridae</i>		
Complexe de la chorioméningite lymphocytaire-Lassa (arénavirus de l'ancien monde) :		
Virus Lassa	4	
Virus de la chorioméningite lymphocytaire (souches neurotropes)	3	
Virus de la chorioméningite lymphocytaire (autres souches)	2	
Virus Mopeia	2	
Autres complexes de la chorioméningite lymphocytaire-Lassa	2	
Complexe Tacaribe (arénavirus du nouveau monde) :		
Virus Guanarito	4	
Virus Junin	4	
Virus Sabia	4	
Virus Machupo	4	
Virus Flexal	3	
Autres complexes Tacaribe	2	
<i>Astroviridae</i>	2	
<i>Bunyaviridae</i>		
Belgrade (également appelé Dobrava)	3	
Bhanja	2	
Virus Bunyamwera	2	
Germiston	2	
Virus Dropouche	3	
Sin Nombre (anciennement Muerto Canyon)	3	
Virus de l'encéphalite de Californie	2	
Hantavirus :		
Hantaan (fièvre hémorragique de Corée)	3	
Séoul (Virus)	3	
Puumala-Virus	2	
Prospect Hill-Virus	2	
Autres hantavirus	2	
Nairovirus :		
Virus de la fièvre hémorragique de Crimée/du Congo	4	
Virus Hazara	2	
Phlebovirus :		
Fièvre de la vallée du Rift	3	V
Fièvre à phlébotomes	2	
Virus Toscana	2	
Autres bunyavirus connus comme pathogènes	2	
<i>Caliciviridae</i>		
Virus de l'hépatite E	3 (**)	
Norwalk-virus	2	
Autres caliciviridae	2	
<i>Coronaviridae</i>	2	
<i>Filoviridae</i>		
Virus Ebola	4	
Virus de Marbourg	4	

Agent biologique	Classification	Notes
<i>Flaviviridae</i>		
Encéphalite d'Australie (encéphalite de la vallée Murray)	3	
Virus de l'encéphalite à tiques d'Europe centrale	3 [**]	V
Absettarov	3	
Hanzalova	3	
Hypr	3	
Kumlinge	3	
Virus de la dengue, types 1 à 4	3	
Virus de l'hépatite C	3 [**]	D
Virus de l'hépatite G	3 [**]	D
Encéphalite B japonaise	3	V
Forêt de Kyasanur	3	V
Louping ill	3 [**]	
Omsk (a)	3	V
Powassan	3	
Rocio	3	
Encéphalite verno-estivale russe (a)	3	V
Encéphalite de Saint-Louis	3	
Virus Wesselsbron	3 [**]	
Virus de la vallée du Nil	3	
Fièvre jaune	3	V
Autres flavivirus connus pour être pathogènes	2	V
<i>Hepadnaviridae</i>		
Virus de l'hépatite B	3 [**]	V, D
Virus de l'hépatite D (delta) (b)	3 [**]	V, D
<i>Herpesviridae</i>		
Cytomegalovirus	2	
Virus d'Epstein-Barr	2	
Herpesvirus simiae (virus B)	3	
Herpes simplex virus, types 1 et 2	2	
Herpesvirus varicella-zoster	2	
Virus lymphotrope B humain (HBLV-HHV6)	2	
Herpesvirus haminis 7	2	
Herpesvirus haminis 8	2	D
<i>Orthomyxoviridae</i>		
Virus influenza, types A, B et C	2	V (c)
Orthomyxoviridae transmis par les tiques : virus Dhori et Thogoto	2	
<i>Papovaviridae</i>		
Virus BK et JC	2	D (d)
Papillomavirus humain	2	D (d)
<i>Paramyxoviridae</i>		
Virus de la rougeole	2	V
Virus des oreillons	2	V
Virus de la maladie de Newcastle	2	
Virus para-influenza, types 1 à 4	2	
Virus respiratoire synovial	2	
<i>Parvoviridae</i>		
Parvovirus humain (B 19)	2	
<i>Picornaviridae</i>		
Virus de la conjonctivite hémorragique (AHC)	2	
Virus Cocksackie	2	
Virus Écho	2	
Virus de l'hépatite A (entérovirus humain, type 72)	2	V
Virus poliomyélitique	2	V
Rhinovirus	2	

Agent biologique	Classification	Notes
<i>Poxviridae</i>		
Buffalopox virus (e)	2	
Cowpox virus	2	
Elephantpox virus (f)	2	
Virus du module des trayeurs	2	
Molluscum contagiosum virus	2	
Monkeypox virus	3	V
Orf virus	2	
Rabbitpox virus (g)	2	
Vaccinia virus	2	
Variola (major et minor) virus	4	V
Whitepox virus (Variola virus)	4	V
Yatapox virus (Tana et Yaba)	2	
<i>Reoviridae</i>		
Coltivirus	2	
Rotavirus humains	2	
Orbivirus	2	
Reovirus	2	
<i>Retroviridae</i>		
Virus de l'immunodéficience humaine	3 (**)	D
Virus de leucémies humaines à cellules T (HTLV), types 1 et 2	3 (**)	D
Virus SIV (h)	3 (**)	
<i>Rhabdoviridae</i>		
Virus de la rage	3 (**)	V
Virus de la stomatite vésiculeuse	2	
<i>Togaviridae</i>		
Alphavirus :		
Encéphalomyélite équine est-américaine	3	V
Virus Bebaru	2	
Virus Chikungunya	3 (**)	
Virus Everglades	3 (**)	
Virus Mayaro	3	
Virus Mucambo	3 (**)	
Virus Ndumu	3	
Virus O'nyong-nyong	2	
Virus de la rivière Ross	2	
Virus de la forêt de Semliki	2	
Virus Sindbis	2	
Virus Tonate	3 (**)	
Encéphalomyélite équine du Venezuela	3	V
Encéphalomyélite équine ouest-américaine	3	V
Autres alphavirus connus	2	
Rubivirus (rubella)	2	V
<i>Toroviridae</i>	2	
Virus non classifiés		
Morbillivirus équin	4	
Virus d'hépatites non encore identifiés	3 (**)	D
Agents non classiques associés avec les encéphalopathies spongiformes transmissibles (EST) :		
Maladie de Creutzfeldt-Jakob	3 (**)	D (d)
Variante de la maladie de Creutzfeldt-Jakob	3 (**)	D (d)
Encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) et autres EST animales associées (i)	3 (**)	D (d)
Syndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker	3 (**)	D (d)
Kuru	3 (**)	D (d)

Tableau C – les parasites

Agent biologique	Classification	Notes
<i>Acanthamoeba castellanii</i>	2	
<i>Ancylostoma duodenale</i>	2	
<i>Angiostrongylus cantonensis</i>	2	
<i>Angiostrongylus costaricensis</i>	2	
<i>Ascaris lumbricoides</i>	2	A
<i>Ascaris suum</i>	2	A
<i>Babesia divergens</i>	2	
<i>Babesia microti</i>	2	
<i>Balantidium coli</i>	2	
<i>Brugia malayi</i>	2	
<i>Brugia pahangi</i>	2	
<i>Capillaria philippinensis</i>	2	
<i>Capillaria</i> spp.	2	
<i>Clonorchis sinensis</i>	2	
<i>Clonorchis viverrini</i>	2	
<i>Cryptosporidium parvum</i>	2	
<i>Cryptosporidium</i> spp.	2	
<i>Cyclospora cayentanensis</i>	2	
<i>Dipetalonema streptocerca</i>	2	
<i>Diphyllobothrium latum</i>	2	
<i>Dracunculus medinensis</i>	2	
<i>Echinococcus granulosus</i>	3 [**]	
<i>Echinococcus multilocularis</i>	3 [**]	
<i>Echinococcus vogeli</i>	3 [**]	
<i>Entamoeba histolytica</i>	2	
<i>Fasciola gigantica</i>	2	
<i>Fasciola hepatica</i>	2	
<i>Fasciolopsis buski</i>	2	
<i>Giardia lamblia</i> (<i>Giardia intestinalis</i>)	2	
<i>Hymenolepis diminuta</i>	2	
<i>Hymenolepis nana</i>	2	
<i>Leishmania brasiliensis</i>	3 [**]	
<i>Leishmania donovani</i>	3 [**]	
<i>Leishmania ethiopica</i>	2	
<i>Leishmania mexicana</i>	2	

Agent biologique	Classification	Notes
<i>Leishmania peruviana</i>	2	
<i>Leishmania tropica</i>	2	
<i>Leishmania major</i>	2	
<i>Leishmania</i> spp.	2	
<i>Lea lea</i>	2	
<i>Mansonella ozzardi</i>	2	
<i>Mansonella persians</i>	2	
<i>Naegleria fowleri</i>	3	
<i>Necator americanus</i>	2	
<i>Onchocerca volvulus</i>	2	
<i>Opisthorchis felinus</i>	2	
<i>Opisthorchis</i> spp.	2	
<i>Paragonimus westermani</i>	2	
<i>Plasmodium falciparum</i>	3 [**]	
<i>Plasmodium</i> spp. (humain et simien)	2	
<i>Sarcocystis suis hominis</i>	2	
<i>Schistosoma haematobium</i>	2	
<i>Schistosoma intercalatum</i>	2	
<i>Schistosoma japonicum</i>	2	
<i>Schistosoma mansoni</i>	2	
<i>Schistosoma mekongi</i>	2	
<i>Strongyloides stercoralis</i>	2	
<i>Strongyloides</i> spp.	2	
<i>Taenia saginata</i>	2	
<i>Taenia solium</i>	3 [**]	
<i>Toxocara canis</i>	2	
<i>Toxoplasma gondii</i>	2	
<i>Trichinella spiralis</i>	2	
<i>Trichuris trichiura</i>	2	
<i>Trypanosoma brucei brucei</i>	2	
<i>Trypanosoma brucei gambiense</i>	2	
<i>Trypanosoma brucei rhodesiense</i>	3 [**]	
<i>Trypanosoma cruzi</i>	3	
<i>Wuchereria bancrofti</i>	2	

Tableau D – les champignons

Agent biologique	Classification	Notes
<i>Aspergillus fumigatus</i>	2	A
<i>Blastomyces dermatitidis</i> (<i>Ajellomyces dermatitidis</i>)	3	
<i>Candida albicans</i>	2	A
<i>Candida tropicalis</i>	2	
<i>Cladophialophora bantiana</i> [anciennement <i>Xylohypha bantiana</i> , <i>Cladosporium bantianum</i> ou <i>trichoides</i>]	3	
<i>Coccidioides immitis</i>	3	A
<i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>neoformans</i> (<i>Filobasidiella neoformans</i> var. <i>neoformans</i>)	2	A
<i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>gattii</i> (<i>Filobasidiella bacillispora</i>)	2	A
<i>Emmonsia parva</i> var. <i>parva</i>	2	
<i>Emmonsia parva</i> var. <i>crescens</i>	2	
<i>Epidermophyton floccosum</i>	2	A
<i>Fonsecaea compacta</i>	2	
<i>Fonsecaea pedrosoi</i>	2	
<i>Histoplasma capsulatum</i> var. <i>capsulatum</i> (<i>Ajellomyces capsulatus</i>)	3	
<i>Histoplasma capsulatum duboisii</i>	3	
<i>Madurella grisea</i>	2	
<i>Madurella mycetomatis</i>	2	
<i>Microsporum</i> spp.	2	A
<i>Neotestudina rosatii</i>	2	
<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	3	
<i>Penicillium marneffei</i>	2	A
<i>Scedosporium apiospermum</i> (<i>Pseudallescheria boydii</i>)	2	
<i>Scedosporium prolificans</i> (<i>inflatum</i>)	2	
<i>Sporothrix schenckii</i>	2	
<i>Trichophyton rubrum</i>	2	
<i>Trichophyton</i> spp.	2	

Lexique des sigles et symboles

Lexique général

- (*)** 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** Agent biologique pathogène qui peut avoir des effets allergisants.
- D** Liste des travailleurs exposés à cet agent biologique à conserver pendant plus de dix ans après la fin de leur dernière exposition connue.
- T** Agent biologique qui est susceptible de produire des toxines.
- V** Un vaccin efficace est disponible.
- spp** Cette mention (species) signifie qu'il est fait référence aux autres espèces qui sont connues pour être pathogènes chez l'homme.

Lexique propre aux virus

- (**)** Certains agents biologiques classés dans le groupe 3 et indiqués dans la liste ci-jointe par un double astérisque peuvent présenter pour les travailleurs un risque d'infection limité parce qu'ils ne sont normalement pas infectieux par l'air.
- (a)** Encéphalite à tiques.
- (b)** Le virus de l'hépatite D nécessite une infection simultanée ou secondaire à celle déclenchée par le virus de l'hépatite B pour exercer son pouvoir pathogène chez le travailleur. La vaccination contre le virus de l'hépatite B protégera dès lors les travailleurs qui ne sont pas infectés par le virus de l'hépatite B, contre le virus de l'hépatite D (delta).

- (c)** Uniquement en ce qui concerne les types A et B.
- (d)** Recommandé pour les travaux impliquant un contact direct avec ces agents.
- (e)** Deux virus peuvent être identifiés sous cette rubrique, un genre "Buffalopox" virus et une variante de "Vaccinia" virus.
- (f)** Variante de "Cowpox".
- (g)** Variante de "Vaccinia".
- (h)** Il n'existe actuellement aucune preuve de maladie de l'homme par les autres rétrovirus d'origine simienne. Par mesure de précaution, un confinement de niveau 3 est recommandé pour les travaux exposant à ces rétrovirus.
- (i)** 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 classifiés 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.

ANNEXE 2

Principales maladies transmissibles à l'homme suivant l'espèce animale

Espèce	Bactériennes et rickettsies	niveau	Virales	niveau	Parasitaires	niveau
Rongeurs et Lagomorphes	Pasteurellose	2	Arboviroses	2 ou 3	Dermatophyties	2
	Pseudo-tuberculose	2			Epidermophyton	2
	Tularémie	3			Microsporium	2
	Francisella tularensis		Rage	3	Trichophyton	2
			Encéphalomyocardite	2		
	Salmonelloses		Chorioméningite lymphocytaire	2		
	S. typhimurium	3	Fièvre de Lhassa	4		
	S. enteridis	2	Junin	4		
	Sodoku		Machupo	4		
	Spirillum morsus muris	2	Virus Hantaan	3		
	Rickettsiose					
	R. mooseri	3				
	R. conori	3				
	R. akari	3				
	Leptospirose					
	L. interrogans	2				
	Streptobacillose					
	S. moniliformis	2				
Chien	Listériose					
	L. monocytogènes	2				
	Yersiniose					
	Yersinia pestis	3				
	Pasteurellose	2	Rage	3	Hydatidose	2
	Pseudo-tuberculose	2			Echinococcus granulosus	2
Chat	Tuberculose				Leishmaniose	
	M. tuberculosis	3			Leishmania spp.	2
	Leptospirose				Mycose	
	L. icterohemorrhagiae	2			Mycosporum canis	2
	L. Canicola	2			Trychophytum m.	
					Toxocarose	2
					Toxocara canis	
	Pasteurellose	2	Rage	3	Toxoplasmose	2
	Tuberculose	3			Toxoplasma gondii	
	M. bovis				Helminthiase	2
	Pseudo-tuberculose	2				
	Maladies des griffes du chat					
	Chlamydia	2				

Espèce	Bactériennes et rickettsies	niveau	Virales	niveau	Parasitaires	niveau
Porc	Tuberculose	3	Rage	3		
	M. tuberculosis		Maladie d'Aujeszki			
	Brucellose	3	Stomatite vésiculaire	2		
	Brucella-suis		Virus aphteux	2		
	Charbon	3	Encéphalomyocardite	3		
	B. anthracis					
	Rouget	2				
	Erysipelothrix insidiosa					
Ruminants	Pasteurellose	2				
	Salmonellose	2				
	Salmonella					
	Charbon	3	Stomatite vésiculaire	2		
	B. anthracis		Fièvre de la vallée du Rift	3		
	Brucellose	3				
	B. abortus		Rage	3		
	B. melitensis					
Equidés	Tuberculose	3	Virus aphteux	2		
	M. bovis		Stomatite pseudo-aphteuse	2		
	Fièvre Q	3	Cow-pox	2		
	Coxiella burnetii		Pseudo cow-pox	2		
	Morve	3	Rage	3		
	Pseudonomias mallei		Stomatite vésiculaire	2		
			Encéphalites diverses	3		
Primates	Salmonellose	2	Herpès B	3	Ambiasse	2
	S. thyphimurium		Maladie de Marburg	4	Entamoeba histolyca	
	Shigellose	2	Rage	3	Ectoparasitose	2
	Shigella		Hépatite B	3	Gales	
	Tuberculose	3	Yaba	2	Mycoses (Candida)	
	M. tuberculosis		Monkey-pox	4	Endoparasitose	2
	Rickettsiose	2	Arboviroses	2 ou 3	Oxyures	
	R ; rickettsii				Spiruses	
	Pseudo-tuberculose	2				
Oiseaux	Colibacillose	2				
	Pasteurellose	2				
	Psittacose	3	Maladie de Newcastle	2		
	Chlamidia psittaci		Nombreuses Arboviroses			
	Ornithose	2	Encéphalites			

Référence : Risques biologiques – Jacques Simons, Philippe So...

Les fiches des maladies transmissibles à l'homme sont disponibles sur le site Internet du département scientifique des sciences de la vie à l'adresse suivante : <http://www.cnrs.fr/SDV/present.html>

sous la rubrique : Expérimentation animale - Les zoonoses, maladies animales transmissibles à l'Homme.

Modalités de transmission des affections et voies d'accès

voie d'accès	affection	espèce en cause
<i>Au niveau de la peau</i>	Mycoses Acarioses Brucelloses	Chiens – Chats Primates – Souris Ovins – Caprins
<i>Par voie transtégumentaire</i> * par morsure	Toxoplasmose Encéphalite à virus B Rage Sodoku	Rongeurs – Chats Singes asiatiques Tous mammifères Rongeurs
* par griffure	Maladies des griffes du chat	Chats
* par piqûre (lors de soins ou de nécropsies)	Tuberculose Septicémies Tularémie Pasteurellose Hépatite B	Tous mammifères Tous mammifères Rongeurs Rongeurs- Chiens – Chats Primates
<i>Au niveau des muqueuses</i> * conjonctive (projections infectantes)	Tuberculose Tularémie Listériose	Primates Rongeurs Rongeurs
* muqueuse respiratoire (aérosols, poussières, allergènes)	Psittacose Pneumonie atypique Tuberculose Chorionéningite lymphocytaire	Oiseaux – Psittacidés Oiseaux – Psittacidés Primates Rongeurs – Primates
<i>Par ingestion</i>	Amibiase Hydatidose Verminoses diverses Leptospirose ictéro-hémorragique Shigellose Salmonellose Pseudo-tuberculose	Primates Chiens Chiens – Chats Rats Primates Primates Rongeurs – Chats – Oiseaux

Référence : Risques biologiques - Jacques Simons, Philippe Sotly

Les organismes génétiquement modifiés

Critères d'évaluation des risques ¹²

L'évaluation du danger d'un OGM doit prendre en compte la pathogénicité de chacun des éléments du trinôme :

- organisme récepteur ou receveur ou hôte,
- vecteur,
- insert.

Dans le cas où les niveaux de risque seraient différents entre receveur, vecteur et insert, le risque supérieur est retenu.

Cependant, l'évaluation du danger conféré par une construction n'est pas nécessairement la simple juxtaposition des dangers présentés par ses constituants : l'association des trois éléments du trinôme peut en effet engendrer une majoration ou une minoration du danger.

□ **Organisme receveur**

Un organisme receveur non pathogène peut présenter un danger après l'introduction d'une séquence exogène. Exemples :

- la séquence exogène peut permettre l'expression d'une toxine,
- la séquence peut modifier les caractéristiques du receveur (augmentation de la prolifération ou de la survie dans l'environnement).

Dans la majorité des cas, un organisme receveur qui est pathogène le reste.

□ **Vecteur**

Le danger des vecteurs viraux est représenté par leur éventuelle capacité :

- à s'intégrer dans le génome de la cellule hôte,
- à se recombiner avec des séquences de l'hôte,
- à être complémentés par des séquences présentes chez l'hôte.

□ **Insert**

La séquence insérée peut être également un facteur de danger :

- ADN codant pour une protéine biologiquement pathogène (toxine...),
- ADN issu d'un micro-organisme pathogène,
- ADN dont l'expression est directement liée au mécanisme d'immortalisation des cellules ou capable d'augmenter la capacité d'expression, d'intégration et/ou de réplication du vecteur.

[12] Principes de classement et guide officiel de la commission de génie génétique, édition avril 2000.

Les cultures cellulaires

Critères d'évaluation des risques

❑ **L'origine des cellules :** végétale, animale ou humaine.

❑ **La nature :**

- cellules libres ou circulantes (cellules sanguines),
- cellules provenant d'un tissu, d'un organe,
- cellules saines ou tumorales ou infectées ou transformées ou transfectées.

❑ **Le type de culture cellulaire :**

- culture primaire (nombre réduit de divisions) : le risque majeur est celui associé à l'existence d'agents infectieux,
- culture de lignées cellulaires (durée de vie indéfinie) : elles proviennent de tumeurs spontanées ou de cellules transformées par immortalisation,
- culture de cellules transfectées.

❑ **Le mode d'immortalisation (cas des cellules transformées) :**

- par un oncogène,
- par un virus (polyome, SV40, virus du sarcome de Rous, virus d'Epstein-Barr...),
- par un produit chimique tel qu'un agent mutagène (nitrosoguanidine, méthanesulfonate d'éthyl...).

Le risque lié à la culture de cellules immortalisées est donc lié à l'agent utilisé pour l'immortalisation ainsi qu'à la possibilité d'une éventuelle production de cet agent (s'il est biologique) par les cellules.

❑ **Les milieux de culture :**

- facteurs de croissance,
- facteurs d'attachement,
- autres additifs : vitamines, ions, hormones, protéines de transport, sérum d'origine humaine ou animale, sang, liquide amniotique...
- agents promoteurs de tumeurs,
- antibiotiques, antifongiques,
- produits génotoxiques : thioguanine, aminoptérine.

❑ **La production par les cellules de :** protéines, virus, parasites, bactéries.

La probabilité de pénétration, d'intégration et de division de cellules en culture suite à un accident est un risque difficile à évaluer. **Pour cette raison, les cellules d'origine humaine, mais également simienne, devront toujours être traitées comme un échantillon biologique à risque.**

Les laboratoires

Confinement L1

□ Aménagement du laboratoire

Dans un laboratoire L1, le matériel biologique manipulé n'est pas pathogène. Il s'agit par conséquent d'un laboratoire standard, séparé des autres locaux par au moins une porte, et ayant les caractéristiques suivantes :

- un espace convenable pour chaque manipulateur,
- des surfaces lisses (murs, sols, paillasse), imperméables, faciles à nettoyer et résistantes aux agents de nettoyage et de désinfection,
- une absence d'endroit difficilement accessible au nettoyage (exemple : plinthes),
- un évier ou lavabo pour permettre le lavage des mains,
- un vestiaire.

Un autoclave doit être placé dans le même bâtiment.
Aucun équipement spécial de confinement n'est exigé.

□ Bonnes pratiques

- connaître les consignes de sécurité et la conduite à tenir en cas d'accident,
- ne pas boire, manger, fumer, se maquiller,
- ne pas décapsuler les crayons feutre avec les dents,
- désinfecter les plans de travail avant et après manipulation et après toute contamination,
- recouvrir la paillasse d'un papier absorbant (type BenchKote®),
- se laver les mains avant et après manipulation,
- porter obligatoirement une blouse et en fonction de la manipulation des gants, des lunettes et/ou un masque,
- utiliser dans la mesure du possible du matériel jetable,
- éviter l'emploi d'aiguilles et de matériel en verre,
- récupérer les aiguilles et matériels coupants dans une boîte spéciale imperforable "safetybox " ; ne pas recapuchonner les aiguilles,
- ne pas pipeter à la bouche, utiliser un système d'aspiration mécanique,
- éviter la production d'aérosols et de projections :
 - une suspension de micro-organismes ne doit jamais être mélangée par aspirations et refoulements successifs à travers une pipette et chassée brutalement,
 - 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.
- utiliser des tubes bouchés lors de centrifugations,
- ne pas stocker d'animaux non concernés par l'expérience en cours,
- dans le cas où des OGM de classe 1 sont manipulés :
 - décontaminer les équipements (centrifugeuse, étuve...) avant leur sortie du local,
 - inactiver le matériel contaminé et les déchets; si l'inactivation est effectuée à l'extérieur du local, transporter le matériel dans un conteneur étanche et fermé.

Les laboratoires

Confinement L2

Aménagement du laboratoire

Un laboratoire L2 a les caractéristiques suivantes :

- marquage du niveau de confinement et pictogramme " danger biologique " à l'entrée du laboratoire,
- séparation des autres locaux par au moins une porte,
- accès réglementé et verrouillable. Les noms du responsable du L2 et des personnes autorisées seront affichés sur la porte,
- espace convenable pour chaque manipulateur,
- surfaces lisses (murs, sols, paillasse), imperméables, faciles à nettoyer et résistantes aux agents de nettoyage et de désinfection,
- absence d'endroit difficilement accessible au nettoyage (exemple : plinthes),
- évier ou lavabo pour permettre le lavage des mains. Pour les nouvelles installations, les robinets devront être à commande non manuelle,
- vestiaire,
- présence recommandée d'une vitre permettant de voir les occupants,
- étanchéité du local pour en permettre la désinfection par fumigation.

Matériel et équipement

- poste de sécurité microbiologique de type II (PSM type II),
- autoclave de préférence à l'étage,
- centrifugeuse à proximité : utiliser des tubes étanches,
- étuve à proximité,
- moyen de communication avec l'extérieur du local recommandé (téléphone, interphone) : ne pas l'utiliser avec les gants servant à l'expérience en cours.

Bonnes pratiques

- connaître les consignes de sécurité et la conduite à tenir en cas d'accident,
- fermer les portes du laboratoire pendant l'exécution du travail,
- ne pas boire, manger, fumer, se maquiller,
- ne pas décapsuler les crayons feutre avec les dents,
- désinfecter les plans de travail avant et après manipulation et après toute contamination,
- recouvrir la paillasse d'un papier absorbant (type BenchKote®),
- se laver les mains avant et après manipulation,
- porter une blouse. Il est conseillé d'en avoir une spéciale, facilement identifiable (par exemple de couleur), qui sera retirée après manipulation et restera dans le local,
- porter obligatoirement des gants ; le port de masque^[1] [2] et/ou de lunettes^[1] est optionnel et dépend de la manipulation,
- réaliser les broyages de tissus sous PSM de type II,
- ouvrir les récipients sous PSM de type II après centrifugation ou homogénéisation afin d'empêcher la dissémination d'aérosols.

[1] si risque chimique associé

[2] si risque de contamination aérienne

- éviter la création d'aérosols et de projections :
 - une suspension de micro-organismes ne doit jamais être mélangée par aspirations et refoulements successifs à travers une pipette et chassée brutalement,
 - 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.
- lors de centrifugations, l'utilisation de tubes bouchés est recommandée,
- dans la mesure du possible, utiliser du matériel jetable,
- éviter l'emploi d'aiguilles et de matériel en verre,
- récupérer les aiguilles et matériels coupants dans une boîte spéciale imperforable " safetybox ". Ne pas recapuchonner les aiguilles,
- ne pas pipeter à la bouche, utiliser un système d'aspiration mécanique,
- décontaminer les équipements (centrifugeuse, étuve...) avant leur sortie du local,
- inactiver le matériel contaminé et les déchets. Si l'inactivation est effectuée à l'extérieur du local, transporter le matériel dans un conteneur étanche et fermé,
- ne pas stocker d'animaux non concernés par l'expérience en cours,
- afficher dans le laboratoire la conduite à tenir en cas de contamination.

Les laboratoires

Confinement L3

□ Aménagement du laboratoire

Un laboratoire L3 a les caractéristiques suivantes :

- marquage du niveau de confinement et pictogramme " danger biologique " à l'entrée du laboratoire,
- accès au laboratoire par un sas ; l'aménagement du sas devra comporter :
 - des vestiaires pour permettre de changer de blouse et de s'équiper des protections individuelles nécessaires aux manipulations,
 - une douche, si possible, pour permettre la décontamination du personnel en cas d'accident.
- filtration de l'air extrait par un filtre absolu type HEPA,
- fenêtres du laboratoire incassables et scellées hermétiquement,
- accès réglementé et verrouillable. Les noms du responsable du L3 et des personnes autorisées à entrer seront affichés à l'entrée,
- maintien du L3 en dépression par rapport aux zones voisines. Prévoir une alarme pour signaler tout changement de pression,
- surfaces lisses (murs, sols, paillasse), imperméables, faciles à nettoyer et résistantes aux agents de nettoyage et de désinfection,
- absence d'endroit difficilement accessible au nettoyage (exemple : plinthes),
- évier ou lavabo équipé de robinets à commande non manuelle. Placer à proximité un distributeur de papier absorbant pour le séchage des mains,
- présence d'un système permettant l'inactivation des effluents des éviers et des douches,
- présence obligatoire d'une vitre permettant de voir les occupants,
- étanchéité du local obligatoire, pour en permettre la désinfection par fumigation,
- présence d'un groupe électrogène de secours vivement conseillé.

□ Matériel et équipement

- poste de sécurité microbiologique de type II (PSM type II),
- autoclave à double entrée,
- présence obligatoire d'une centrifugeuse : utiliser des tubes étanches,
- présence obligatoire d'une étuve,
- présence d'un congélateur permettant de stocker le matériel biologique sur place. Il est conseillé de l'équiper d'une alarme,
- équipement de base (petit matériel de type vortex, bain-marie, centrifugeuse de paillasse...) spécifique au L3 et marqué,
- moyen de communication avec l'extérieur du local recommandé (téléphone, interphone) : ne pas l'utiliser avec les gants servant à l'expérience en cours,
- appareil pour formolisation.

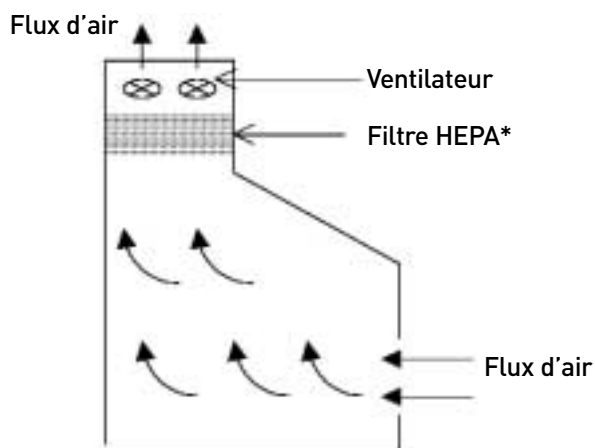
□ Bonnes pratiques

- connaître les consignes de sécurité et la conduite à tenir en cas d'accident,
- tenir à jour un cahier d'enregistrement de la date des expériences et du matériel biologique manipulé,
- ne pas boire, manger, fumer, se maquiller,
- ne pas décapsuler les crayons feutre avec les dents,
- il est recommandé de ne pas travailler seul,
- désinfecter les plans de travail avant et après manipulation et après toute contamination,
- recouvrir la paillasse d'un papier absorbant (type BenchKote®),
- se laver les mains avant et après manipulation,
- le port de la blouse est obligatoire. Il est conseillé d'avoir soit des blouses jetables, soit des blouses spéciales, facilement identifiables (par exemple de couleur), qui seront retirées après manipulation et resteront dans le sas. Dans le cas où elles ne seraient pas jetables, elles doivent être autoclavées avant d'être envoyées à la blanchisserie,
- le port de gants, de coiffe et de surbottes est obligatoire,
- le port de masque⁽¹⁾⁽²⁾ et/ou de lunettes⁽¹⁾ est optionnel et dépend de la manipulation,
- réaliser les broyages de tissus sous PSM de type II,
- lors de centrifugations, l'utilisation de tubes bouchés est obligatoire,
- après centrifugation ou homogénéisation, ouvrir les récipients sous PSM de type II, afin d'empêcher la dissémination d'aérosols.
- éviter la création d'aérosols et de projections,
- une suspension de micro-organismes ne doit jamais être mélangée par aspirations et refoulements successifs à travers une pipette et chassée brutalement,
- 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,
- utiliser du matériel jetable, dans la mesure du possible,
- éviter l'emploi d'aiguilles et de matériel en verre,
- Récupérer les aiguilles et matériels coupants dans une boîte spéciale imperforable " safetybox ". Ne pas recapuchonner les aiguilles,
- ne pas pipeter à la bouche, utiliser un système d'aspiration mécanique,
- décontaminer les équipements (centrifugeuse, étuve ...) avant leur sortie du local,
- inactiver le matériel contaminé et les déchets par autoclavage,
- ne pas stocker d'animaux non concernés par l'expérience en cours,
- afficher dans le laboratoire la conduite à tenir en cas de contamination,
- mettre en place un programme de lutte contre les insectes et les rongeurs.

[1] si risque chimique associé

[2] si risque de contamination aérienne

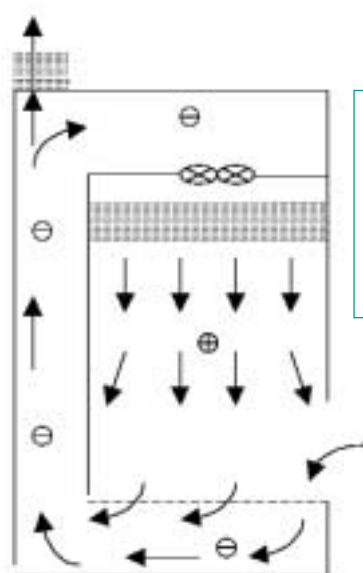
Les postes de sécurité microbologique (PSM)



PSM de type I

Protection

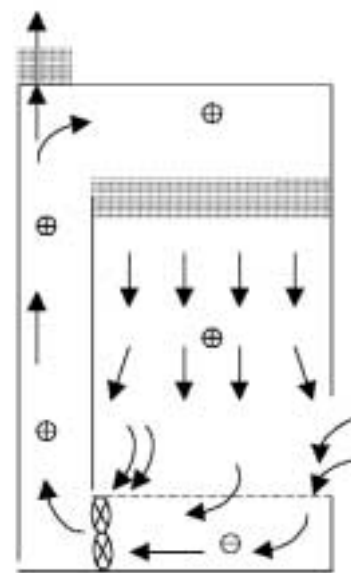
Manipulation	aucune
Manipulateur	bonne
Environnement	bonne



PSM de type II A

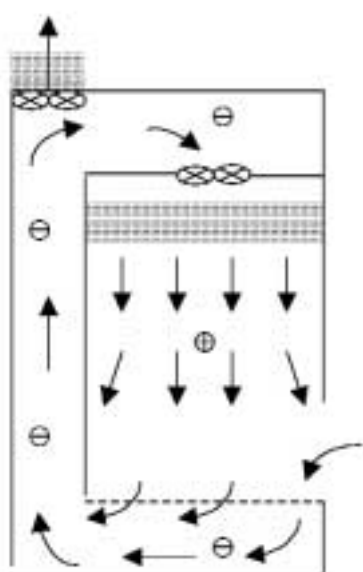
Protection

Manipulation	bonne
Manipulateur	bonne
Environnement	bonne



⊖ Dépression

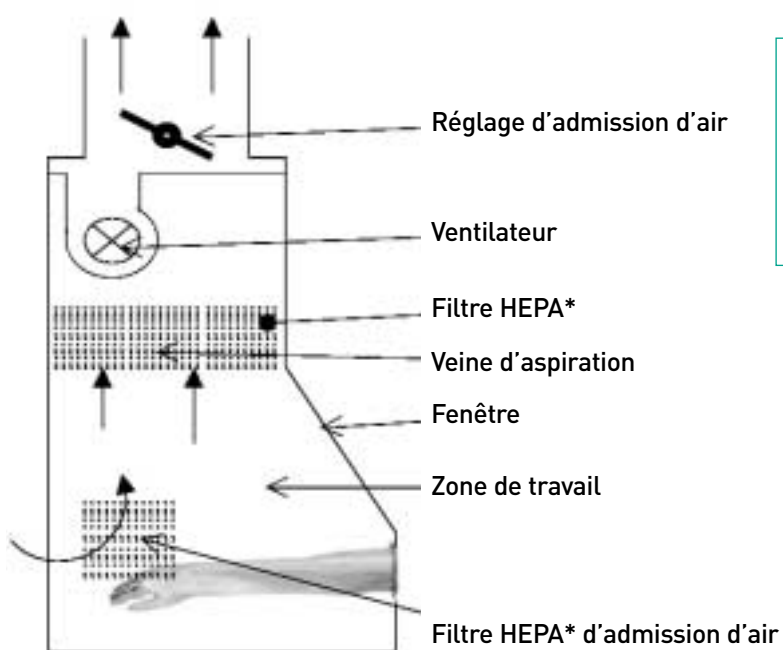
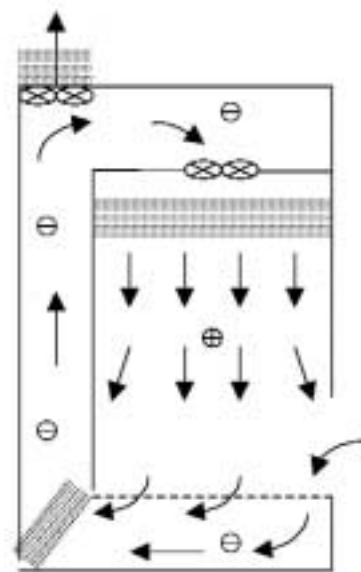
⊕ Surpression



PSM de type II B

Protection

Manipulation	bonne
Manipulateur	bonne
Environnement	bonne



PSM de type III

Protection

Manipulation	bonne
Manipulateur	bonne
Environnement	bonne

Les animaleries

Confinement A1

Aménagement

Les locaux doivent être clos et protégés, avec des ouvertures vers l'extérieur en nombre aussi réduit que possible et des vitres de type anti-effraction. De plus, les ouvertures doivent être munies de dispositifs empêchant l'intrusion par des animaux indésirables (insectes rampants, rongeurs sauvages...).

Pour le personnel, l'animalerie doit comporter un bureau, des vestiaires, des douches et des sanitaires, des moyens de communication vers l'extérieur ainsi que des portes munies de vitres permettant de voir à l'intérieur de chaque pièce. Un lavabo pour le lavage des mains doit être disponible dans l'unité animale.

Elle est composée de différentes pièces réservées au stockage des litières, au matériel propre, à la nourriture, à la mise en quarantaine, à l'hébergement des animaux (une pièce par espèce), à l'isolement des animaux malades, à l'expérimentation et à une laverie équipée d'une installation de lavage des cages.

Elle doit être équipée :

- de systèmes de ventilation (15 volumes d'air par heure) et de climatisation sans recyclage d'air, obligatoirement secourue,
- de systèmes de contrôle de l'humidité relative et de la température,
- de surfaces lisses et imperméables, faciles à laver et à désinfecter

Equipements

- utiliser des matériaux faciles à désinfecter pour les cages, parcs ou boxes.

Animaux

- isoler les animaux sauvages ou de provenance inconnue,
- mettre en quarantaine et effectuer le contrôle sérologique des animaux nouvellement introduits,
- réaliser l'abattage immédiat des lots suspects ou contaminés,
- séparer les espèces,
- surveiller régulièrement les animaux et les vacciner si nécessaire.

Dans le cas d'animaux transgéniques, toutes les cages ou structures de confinements doivent être numérotées et répertoriées. La mention "organisme génétiquement modifié" doit être notée sur les cages.

□ **Bonnes pratiques**

- assurer le suivi médical et la formation préalable et obligatoire du personnel (connaissance du comportement des animaux à manipuler et maîtrise gestuelle),
- tenir à jour un registre d'entrée et de sortie des animaux,
- afficher des consignes à mettre en œuvre en cas d'accident ou d'incident,
- ne pas boire, manger et fumer,
- porter des tenues de protection adaptées (blouse, gants, masque, lunettes, bottes...),
- utiliser du matériel jetable,
- employer le matériel de contention afin de limiter les risques d'agression ou de réaction de l'animal,
- désinfecter régulièrement locaux, surfaces de travail, siphons de sol et matériels (cages),
- mettre en place un programme de lutte contre les insectes et les rongeurs.

Les animaleries

Confinement A2

Aménagement

L'implantation de l'animalerie doit se trouver dans une zone réservée du bâtiment, à l'écart du passage des personnels non concernés. Son accès sera prévu pour permettre aux agents de changer de vêtements.

Les locaux doivent être clos et protégés, avec des ouvertures vers l'extérieur en nombre aussi réduit que possible et des vitres de type anti-effraction. De plus, les ouvertures doivent être munies de dispositifs empêchant l'intrusion par des animaux indésirables (insectes rampants, rongeurs sauvages...).

Le logo risque biologique doit être apposé sur les portes.

Pour le personnel, l'animalerie doit comporter un bureau, des vestiaires, des douches et des sanitaires, des moyens de communication vers l'extérieur ainsi que des portes munies de vitres permettant de voir à l'intérieur de chaque pièce. Un lavabo pour le lavage des mains doit être disponible dans l'unité animale.

Elle est composée de différentes pièces réservées au stockage des litières, au matériel propre, à la nourriture, à la mise en quarantaine, à l'hébergement des animaux (une pièce par espèce), à l'isolement des animaux malades, à l'expérimentation et à une laverie équipée d'une installation de lavage des cages.

Elle doit être équipée :

- de systèmes de ventilation (15 volumes d'air par heure) et de climatisation sans recyclage d'air, obligatoirement secourue,
- de systèmes de contrôle de l'humidité relative et de la température,
- de surfaces lisses et imperméables, faciles à laver et à désinfecter (matériel poreux interdit).

Equipements

- un autoclave doit être disponible à proximité de l'animalerie,
- utiliser des matériaux faciles à désinfecter pour les cages, parcs ou boxes.

Animaux

- isoler les animaux sauvages ou de provenance inconnue,
- mettre en quarantaine et effectuer le contrôle sérologique des animaux nouvellement introduits,
- réaliser l'abattage immédiat des lots suspects ou contaminés,
- séparer les espèces,
- surveiller régulièrement les animaux et les vacciner si nécessaire.

Dans le cas d'animaux transgéniques, toutes les cages ou structures de confinements doivent être numérotées et répertoriées. La mention "organisme génétiquement modifié" doit être notée sur les cages.

□ Bonnes pratiques

- limiter l'accès au personnel autorisé et prévenu du risque infectieux,
- assurer le suivi médical et la formation préalable et obligatoire du personnel (connaissance du comportement des animaux à manipuler et maîtrise gestuelle),
- tenir à jour un registre d'entrée et de sortie des animaux,
- afficher des consignes à mettre en œuvre en cas d'accident ou d'incident,
- ne pas boire, manger, et fumer,
- porter des tenues de protection adaptées (blouse, gants, masque, lunettes, bottes...), mises à l'entrée et quittées avant de sortir. Pour la manipulation d'animaux infectés, il est indispensable de porter des gants résistants aux morsures et griffures et le port de chaussures fermées est conseillé,
- utiliser du matériel jetable,
- employer le matériel de contention afin de limiter les risques d'agression ou de réaction de l'animal.
- effectuer toute manipulation susceptible de créer un aérosol infectieux dans un poste de sécurité microbiologique (type I ou II) ou avec une protection personnelle faciale (masque, lunettes), notamment : autopsie des animaux infectés, recueil de tissus infectés, de liquides organiques ou d'œufs infectés, inoculation intranasale de matériel infectieux,
- inactiver les déchets avant enlèvement,
- désinfecter régulièrement locaux, surfaces de travail, siphons de sol et matériels (cages par autoclavage),
- mettre en place un programme de lutte contre les insectes et les rongeurs.

Les animaleries

Confinement A3

Aménagement

L'implantation de l'animalerie doit se trouver dans une zone réservée du bâtiment, à l'écart du passage des personnels non concernés. Elle doit être équipée d'un système de contrôle d'accès avec identification (badge nominatif).

Les locaux doivent être clos et protégés, avec des ouvertures vers l'extérieur en nombre aussi réduit que possible et des vitres de type anti-effraction. Les fenêtres seront hermétiquement scellées. De plus, les ouvertures doivent être munies de dispositifs empêchant l'intrusion par des animaux indésirables (insectes rampants, rongeurs sauvages...).

L'entrée de la zone de niveau 3 doit être balisée (logo risque biologique) et munie d'un sas à double portes. La zone A3 doit être en dépression et le sas en dépression intermédiaire. L'air extrait doit être filtré sur des filtres à très haute efficacité (dits filtres HEPA).

Pour le personnel, l'animalerie doit comporter un bureau, des vestiaires et des douches à proximité de l'accès, des sanitaires, des moyens de communication vers l'extérieur ainsi que des portes munies de vitres permettant de voir à l'intérieur de chaque pièce. Un lavabo pour le lavage des mains doit être disponible dans l'unité animale.

Elle est composée de différentes pièces réservées au stockage des litières, au matériel propre, à la nourriture, à la mise en quarantaine, à l'hébergement des animaux (une pièce par espèce), à l'isolement des animaux malades, à l'expérimentation et à une laverie équipée d'une installation de lavage des cages.

Elle doit être équipée :

- de systèmes de ventilation (15 volumes d'air par heure) et de climatisation sans recyclage d'air, obligatoirement secourue,
- de systèmes de contrôle de l'humidité relative et de la température,
- de surfaces lisses et imperméables, faciles à laver et à désinfecter (matériel poreux interdit).

Equipements

- des dispositifs de lavage des mains à commande au coude, au pied ou automatiques et placés près de chaque porte de sortie,
- utiliser des matériaux faciles à désinfecter pour les cages, parcs ou boxes,
- un autoclave à double entrée doit être situé dans l'animalerie. Pour de grands animaux, il faut prévoir un dispositif de fumigation ou d'un bain de désinfectant, avec une possibilité d'accès par l'intérieur et par l'extérieur,
- si un circuit de vide est utilisé, il doit être protégé par des filtres HEPA et des pièges à eau contenant un désinfectant approprié. Un circuit de vide général est à proscrire,
- au sein de chaque local affecté à une espèce, les cages occupées par des animaux infectés doivent être placées dans des enceintes de sécurité adaptées,

□ Animaux

- isoler les animaux sauvages ou de provenance inconnue,
- mettre en quarantaine et effectuer le contrôle sérologique des animaux nouvellement introduits,
- réaliser l'abattage immédiat des lots suspects ou contaminés,
- séparer les espèces,
- surveiller régulièrement les animaux et les vacciner si nécessaire.

Dans le cas d'animaux transgéniques, toutes les cages ou structures de confinements doivent être numérotées et répertoriées. La mention " organisme génétiquement modifié " doit être notée sur les cages.

□ Bonnes pratiques

- limiter l'accès au personnel autorisé et prévenu du risque infectieux,
- assurer le suivi médical et la formation préalable et obligatoire du personnel (connaissance du comportement des animaux à manipuler et maîtrise gestuelle),
- tenir à jour un registre d'entrée et de sortie des animaux,
- afficher des consignes strictes définissant les méthodes de décontamination de toute la zone A3,
- afficher des consignes à mettre en œuvre en cas d'accident ou d'incident,
- ne pas boire, manger, et fumer,
- Porter des tenues de protection complètes (blouse, gants, masque filtrant, lunettes, bottes ou surchaussures...), mises et quittées dans le sas. Pour la manipulation d'animaux infectés, il est indispensable de porter des gants résistants aux morsures et griffures et le port de chaussures fermées est conseillé,
- autoclaver avant lavage les protections individuelles non jetables (gants, blouse...),
- utiliser du matériel jetable,
- employer le matériel de contention afin de limiter les risques d'agression ou de réaction de l'animal.
- effectuer toute manipulation susceptible de créer un aérosol infectieux dans un poste de sécurité microbiologique (type I ou II) ou avec une protection personnelle faciale (masque, lunettes), notamment : autopsie des animaux infectés, recueil de tissus infectés, de liquides organiques ou d'œufs infectés, inoculation intranasale de matériel infectieux,
- inactiver les déchets avant enlèvement,
- désinfecter régulièrement locaux, surfaces de travail, siphons de sol et matériels (cages par autoclavage) ; il est recommandé d'autoclaver les cages avant le changement de litière et le nettoyage. Pour les cages de grandes dimensions, des précautions particulières sont prises pour la manipulation des litières : film plastique débordant placé dans le bac contenant la litière qui est repris par les côtés pour être déposé dans un sac plastique. La décontamination de la cage peut se faire dans un bain décontaminant à l'intérieur de l'unité animale,
- mettre en place un programme de lutte contre les insectes et les rongeurs.

Les serres

Confinement S1

(contrôle de la dissémination du pollen)

□ Aménagement

En cas de construction de serre neuve, il faudra tenir compte des règles suivantes :

- les constructions métalliques seront dimensionnées selon AL 76 et/ou CM 66, assemblées selon les normes de la série P 22-25 et P 22-4,
- les vitrages seront dimensionnés selon les règles du DTU n° 39, norme P 78-291,
- pour les actions climatiques règle N 84,
- charge neige règle NV- 65.

Les règles en matière de sécurité du travail imposent une résistance minimale de 1200 Joules (sac de 80 kg chutant de 1,50 m).

Les locaux où sont cultivées les plantes transgéniques doivent être clairement identifiés. Dans ce cas, toutes les ouvertures (serre, tunnel...) doivent être pourvues de filets efficaces (moustiquaires, maille inférieure à 1 mm) et en bon état, et les portes d'entrée d'un sas interdisant l'accès aux insectes.

□ Bonnes pratiques

- informer le responsable des locaux des expériences réalisées,
- afficher la nature des plantes,
- mettre en place des registres indiquant la traçabilité des plantes et les expérimentations en cours,
- installer un dispositif de surveillance et de protection approprié (digicode, gardiennage, clôtures),
- interdire l'accès des locaux abritant les plantes transgéniques aux personnes non concernées par les expérimentations ou l'entretien des locaux et des cultures,
- ne pas boire, manger ou fumer,
- porter des vêtements de travail spécifiques,
- respecter les mesures élémentaires d'hygiène : lavage des mains..,
- minimiser la création d'aérosols,
- limiter l'utilisation d'objets tranchants/coupants,
- employer des boîtes anti-piqûre,
- après expérimentation, détruire les plantes transgéniques et les substrats de culture dans le local ou les transporter dans un conteneur étanche pour destruction par incinération ou autoclavage,
- mettre en place un programme de lutte contre les insectes et les rongeurs.

Les serres

Confinement S2

(contrôle de la dissémination du pollen et des graines)

Ces serres concernent essentiellement les plantes dont les graines survivent au froid, ainsi qu'à d'autres conditions adverses, selon leur taille et leur biologie.

□ Aménagement de la serre

Les serres sont en appui sur des fondations.

En cas de construction de serre neuve, il faudra tenir compte des règles suivantes :

- les constructions métalliques seront dimensionnées selon AL 76 et/ou CM 66, assemblées selon les normes de la série P 22-25 et P 22-4,
- les vitrages seront dimensionnés selon les règles du DTU n° 39, norme P 78-291,
- pour les actions climatiques règle N 84,
- charge neige règle NV- 65.

Les règles en matière de sécurité du travail imposent une résistance minimale de 1200 Joules (sac de 80 kg chutant de 1,50 m).

Les matériaux de construction doivent être imperméables à l'eau.

Les locaux où sont cultivées les plantes transgéniques doivent être clairement identifiés. Dans ce cas, toutes les ouvertures (serre, tunnel...) doivent être pourvues de filets efficaces (moustiquaires, maille inférieure à 1 mm) et en bon état, et les portes d'entrée d'un sas interdisant l'accès aux insectes.

Les serres sont pourvues de dispositifs efficaces visant à empêcher la dissémination des graines.

Les plantes doivent être cultivées hors sol en distinguant les cas suivants :

- expérimentations ne faisant pas intervenir d'autres organismes (pathogènes ou transgéniques) : utilisation de gravier qui doit être facile à stériliser ou à désherber, afin de détruire sur place les plantules.
- expérimentations comportant d'autres organismes pathogènes ou transgéniques : sol en béton, de façon à permettre la récolte des graines tombées et la récupération des effluents afin de les désinfecter.

Lorsqu'ils existent, les collecteurs de surplus d'arrosage ou des solutions de nettoyage et de désinfection seront munis de grilles ou de tamis de maille adaptée, afin de prévenir tout échappement de graines par l'évacuation des eaux usées.

Dans ces installations, les manipulations ne doivent pas faire intervenir des organismes de classe supérieure à Ep1 (ou Ep2 à condition que la serre soit pourvue de dispositifs efficaces de collecte et de désinfection des effluents).

Une zone nue (selon les cas en gravier, désherbée...) doit être réservée autour du local, afin de permettre le contrôle par désherbage de toute graine provenant du local expérimental.

□ **Bonnes pratiques**

- informer le responsable des locaux des expériences réalisées,
- afficher la nature des plantes,
- mettre en place des registres indiquant la traçabilité des plantes et les expérimentations en cours,
- installer un dispositif de surveillance et de protection approprié (digicode, gardiennage, clôtures),
- interdire l'accès des locaux abritant les plantes transgéniques aux personnes non concernées par les expérimentations ou l'entretien des locaux et des cultures,
- ne pas boire, manger ou fumer,
- porter des vêtements de travail spécifiques,
- respecter les mesures élémentaires d'hygiène : lavage des mains...,
- minimiser la création d'aérosols,
- limiter l'utilisation d'objets tranchants / coupants,
- employer des boîtes anti-piqûre,
- après expérimentation, détruire les plantes transgéniques et les substrats de culture dans le local ou les transporter dans un conteneur étanche pour destruction par incinération ou autoclavage,
- désinfecter tous les instruments, la poterie et les supports de culture,
- mettre en place un programme de lutte contre les insectes et les rongeurs.

Les serres

Confinement S3

(contrôle de la dissémination du pollen et des graines, contrôle des insectes vecteurs de virus, contrôle des micro-organismes de classe Ep2 et Ep3 de la veine fluide, éventuellement associés aux expérimentations concernant les plantes : champignons, bactéries, virus)

□ Aménagement de la serre

Les serres sont en appui sur des fondations.

En cas de construction de serre neuve, il faudra tenir compte des règles suivantes :

- les constructions métalliques seront dimensionnées selon AL 76 et/ou CM 66, assemblées selon les normes de la série P 22-25 et P 22-4,
- les vitrages seront dimensionnés selon les règles du DTU n° 39, norme P 78-291,
- pour les actions climatiques règle N 84,
- charge neige règle NV- 65.

Les règles en matière de sécurité du travail imposent une résistance minimale de 1200 Joules (sac de 80 kg chutant de 1,50 m).

Les matériaux de construction doivent être imperméables à l'eau.

Le maintien des fonctions de paroi après un bris accidentel doit être assuré par l'utilisation de verre feuilleté (norme expérimentale P 08-302 ainsi que les niveaux de performance définis par la norme NF P78 - 406 avril 94).

Les locaux où sont cultivées les plantes transgéniques doivent être clairement identifiés. Dans ce cas, toutes les ouvertures (serre, tunnel...) doivent être pourvues de filets efficaces (moustiquaires, maille inférieure à 1 mm) et en bon état, et les portes d'entrée d'un sas interdisant l'accès aux insectes.

Cette installation comporte en outre les dispositifs suivants :

- les parois et la toiture de la serre doivent être étanches,
- l'air doit entrer et sortir de la serre à travers des filtres industriels de type EU3 à EU7 ne permettant ni le passage des grains de pollen, ni celui des insectes.

Ces dispositifs de contrôle de la circulation de l'air ne sont pas normalement et directement adaptés pour le contrôle de la dissémination de spores de champignons.

En fonction de leur pathogénicité, les organismes, transgéniques ou non, doivent être expérimentés dans un PSM, pour la protection de l'environnement.

Les dispositifs de culture de plantes destinées à l'expérimentation de champignons sporulants doivent se conduire dans des conditions de sécurité comparables à celles du PSM.

L'accès de la serre se fait au travers d'un sas dont les deux portes ne peuvent s'ouvrir simultanément.

Le sol doit être imperméable pour permettre la récupération des excédents des eaux d'arrosage et des solutions de nettoyage et de désinfection.

Les effluents sont filtrés sur des tamis de mailles adaptées puis stérilisés avant rejet.

□ **Bonnes pratiques**

- informer le responsable des locaux des expériences réalisées,
- afficher la nature des plantes,
- mettre en place des registres indiquant la traçabilité des plantes et les expérimentations en cours,
- installer un dispositif de surveillance et de protection approprié (digicode, gardiennage, clôtures),
- interdire l'accès des locaux abritant les plantes transgéniques aux personnes non concernées par les expérimentations ou l'entretien des locaux et des cultures,
- ne pas boire, manger ou fumer,
- porter des vêtements de travail et des chaussures réservés aux travaux effectués dans le local,
- se désinfecter les mains avant de sortir du local,
- minimiser la création d'aérosols,
- limiter l'utilisation d'objets tranchants / coupants,
- employer des boîtes anti-piqûre,
- stériliser dans le local les vêtements, les plantes et les effluents ou les transporter dans un dispositif étanche jusqu'à un local voisin pour y être stérilisés,
- après expérimentation, détruire les plantes transgéniques et les substrats de culture dans le local ou les transporter dans un conteneur étanche pour destruction par incinération ou autoclavage,
- désinfecter tous les instruments, la poterie et les supports de culture,
- mettre en place un programme de lutte contre les insectes et les rongeurs.

Les vaccinations

Les indications de vaccinations du personnel travaillant en laboratoire sont en constante évolution.

Ces vaccinations peuvent être soit obligatoires soit recommandées.

Les professionnels de santé et les personnels des laboratoires d'analyses médicales doivent être vaccinés contre la tuberculose, le tétanos, la poliomyélite, la diphtérie, l'hépatite B et la fièvre typhoïde.

Pour les personnels des laboratoires de recherche, la vaccination est proposée chaque fois que la protection collective ne permet pas de circonscrire le risque.

Toutes les vaccinations sont soumises à l'accord du salarié après une information claire et précise du médecin de prévention.

□ Liste non exhaustive des différentes vaccinations recommandées :

Il est rappelé que la vaccination contre le tétanos et la poliomyélite s'adresse à l'ensemble de la population.

- **Vaccination contre le tétanos :**

- > tous travaux à haut risque de blessure contaminante : prélèvements de sols ou de boues,
- > soins animaliers.

- **Vaccination contre la tuberculose (BCG) :**

- > manipulation de mycobactéries,
- > travaux effectués dans une animalerie de primates,
- > contact avec les eaux usées (égouts, stations d'épuration...).

- **Vaccination contre l'hépatite B :**

- > manipulation de sang ou de dérivés, de sécrétions biologiques ou d'organes d'origine humaine.

- **Vaccination contre la fièvre typhoïde :**

- > contact avec des selles.

- **Vaccination contre l'hépatite A :**

- > contact avec les eaux usées,
- > contact avec des primates.

- **Vaccination contre la rage :**

- > manipulation d'animaux sauvages ou d'origine indéterminée.

- **Vaccination contre la leptospirose :**

- > risque de contact direct ou indirect avec des urines de rats ou des eaux souillées par leurs déjections (égouts, eaux de rivière, canaux...).

La conduite à tenir en cas d'accident

▣ **Accident exposant au sang ou aux produits biologiques, par piqûre, coupure ou projection.**

- nettoyer immédiatement la plaie, utiliser de l'eau courante et du savon,
- désinfecter par trempage en assurant un temps de contact au moins 5 mn avec un dérivé chloré (dakine, eau de javel à 12° chlorométrique dilué au 1/10°) ou à défaut polyvidone iodée en solution ou à défaut alcool à 70°,
- en cas de projection sur les muqueuses (en particulier dans les yeux), rincer immédiatement au sérum physiologique ou à l'eau pendant au moins 10 minutes,
- l'évaluation des risques infectieux (VIH, VHC, VHB) doit être faite de façon urgente par un médecin référent pour la prophylaxie. Pour cela, le protocole d'urgence rédigé en association avec le médecin de prévention devra être affiché dans le service (indiquant les coordonnées du médecin référent et le suivi sérologique).

Le délai rapide de mise en route du traitement (si possible dans les 4 heures) reste un élément capital de l'efficacité. Un traitement prophylactique par les antirétroviraux est proposé en fonction du risque,

- prévenir le médecin de prévention et déclarer l'accident.

▣ **Cas d'une plaie souillée par des eaux usées**

Deux complications sont à souligner : le tétanos et la leptospirose.

■ **Les premiers soins**

- nettoyer immédiatement la plaie, utiliser de l'eau courante et du savon,
- désinfecter par trempage en assurant un temps de contact au moins 5 mn avec un dérivé chloré (dakine, eau de javel à 12° chlorométrique dilué au 1/10°) ou à défaut polyvidone iodée en solution ou à défaut alcool à 70°.

■ **Conduite ultérieure**

- vérifier les dates de vaccinations antitétaniques : dans le cas d'une plaie souillée, il est recommandé, si la dernière injection date de plus de 10 ans, d'effectuer par prudence un nouveau rappel de vaccination antitétanique. Une injection de gamma-globulines humaines spécifiques antitétaniques peut également être recommandée selon l'ancienneté de la vaccination et la gravité de la plaie,
- rappeler au blessé et à son médecin traitant le risque de leptospirose par contamination d'une plaie par des eaux usées : toute fièvre d'aspect pseudo-grippal apparaissant dans les 2 à 20 jours (en moyenne 7 à 12 jours) suivant l'accident doit faire rechercher systématiquement une leptospirose et prescrire rapidement un traitement antibiotique approprié. Il est rappelé que la vaccination contre la leptospirose apporte une protection très efficace mais non absolue, et elle reste limitée au séro-groupe *Leptospira icterohaemorrhagiae*,

- ne pas oublier qu'une plaie non strictement superficielle doit être examinée par un médecin pour ne pas méconnaître une lésion sous-jacente ou la présence d'un corps étranger.

□ **Cas de projection dans les yeux**

- laver à l'eau potable pendant au minimum 10 minutes, en maintenant les paupières écartées,
- consulter rapidement un ophtalmologiste.

Avant d'utiliser un produit, il est obligatoire de tester son efficacité sur le matériel à détruire.

□ L'eau de javel

Le chlore détruit très rapidement les bactéries, virus ou champignons. En fonction de la concentration et du temps de contact, l'eau de Javel peut avoir une action différente : bactéricide, virucide, sporicide, fongicide. La dilution adaptée sera établie au cas par cas.

L'eau de Javel est commercialisée sous différentes formes :

- solution stable en bouteilles titrant 12 degrés chlorométriques, conservation environ six mois,
- solution concentrée titrant 48 degrés chlorométriques à diluer,
- comprimés de dichloroisocyanurate de sodium d'utilisation facile mais d'activité désinfectante moindre.

A partir de la solution mère à 12 degrés chlorométriques, différentes dilutions sont réalisées extemporanément avec de l'eau froide ou tiède.

L'eau de Javel doit toujours être utilisée seule.

Elle ne doit pas être employée sur des appareils ou des matériels oxydables (aluminium, cuivre...).

L'eau de Javel se dégrade rapidement. Il faut donc la conserver à l'abri de la lumière, de la chaleur et vérifier sa date de péremption.

□ Les ammoniums quaternaires

Le spectre d'activité est relativement large sur les bactéries et les champignons. Ils sont peu actifs sur les virus et les spores.

□ Les aldéhydes

Les aldéhydes détruisent facilement les bactéries et les champignons.

Ils peuvent servir à désinfecter les surfaces, les instruments (glutaraldéhyde) et les appareils et peuvent être utilisés seuls ou associés à un détergent.

Ils sont suractivés par synergie d'action en association avec les ammoniums quaternaires.

Spectre d'activité des principales familles de désinfectants et d'antiseptiques

Micro-organismes Désinfectants		Gram +	Gram -	Mycobactéries	Spores	Champignons et levures	Virus
Halogènes	iodés	+++	+++	++	++	+++	+
	chlorés	+++	+++	+/-	+	++	+
Aldéhydes		+++	+++	++	++	++	++
Tensio-actifs	cationiques	+++	+	+/-	+/-	+/-	+/-

Référence : Risques biologiques – Jacques Simons, Philippe Sotty

+++ vivement recommandé
++
+
+/- déconseillé

❑ **Les rayonnements ultraviolets**

Les rayonnements ultraviolets ne sont pas efficaces sur tous les types de germes. Ils n'ont qu'un effet bactéricide sur les poussières de l'air. Dans ces conditions, cette méthode de décontamination est vivement déconseillée.

❑ **La fumigation : désinfection des locaux et surfaces par voie aérienne**

Le produit de fumigation le plus couramment utilisé en laboratoire de recherche est le formaldéhyde en phase vapeur.

Les principales applications sont la désinfection et la décontamination :

- de l'air ambiant d'un laboratoire,
- de surfaces inaccessibles,
- avant toute intervention (notamment lors du changement des filtres de PSM),
- avant la sortie d'un appareillage.

Il s'agit d'un produit chimique dangereux. Par conséquent, il est recommandé de faire appel à une société spécialisée.

Pour la désinfection de petits matériels, il existe des appareils portatifs et/ou programmables.

Des préparations commerciales (sans aldéhyde) sont également disponibles. Leur utilisation est cependant conditionnée par leur spectre d'activité restreint.

❑ **Stérilisation**

■ **Chaleur humide (autoclaves)**

La stérilisation par chaleur humide sous pression est actuellement la méthode la plus fiable, efficace et facile d'emploi.

■ **Chaleur sèche (fours, flambage)**

La chaleur sèche des fours de type Poupinel et de type Pasteur peut être utilisée sur des instruments susceptibles d'être détériorés par l'humidité.

Le flambage est à proscrire en raison de sa très faible efficacité, et des risques de création d'aérosols.

■ **Stérilisation à vapeurs bactéricides**

Le formaldéhyde et l'oxyde d'éthylène gazeux ont une activité bactéricide et sporicide entre 30°C et 80°C. Ils nécessitent des stérilisateur prévus à cet effet, et du personnel qualifié.

■ **Remarque :**

Les fours à micro-ondes ne peuvent servir ni à la stérilisation du matériel, ni à celle des liquides.

❑ **Cas particulier des prions¹³**

Les méthodes classiques ne sont pas efficaces sur les prions.

Différents traitements sont proposés :

- Chimiques :
 - > eau de Javel fraîchement diluée à 6° chlorométrique, à température ambiante, pendant 1 heure,
 - > soude 1N à température ambiante, pendant 1 heure.
- Thermiques :
 - > autoclave à 134°C, pendant 1 heure.

Cependant, aucune de ces méthodes n'offre une garantie absolue ; l'efficacité maximale est obtenue en associant un traitement chimique au traitement thermique.

Les déchets inactivés par ces méthodes doivent ensuite être incinérés dans un centre agréé.

¹³ Circulaire DGS/5C/DHOS/E2 n°2001-138 du 14 mars 2001 relative aux précautions à observer lors de soins en vue de réduire les risques de transmission d'agents transmissibles non conventionnels.

Les déchets

□ Nature des déchets

- solide, liquide, piquant/coupant,
- putrescible d'origine humaine, animale ou végétale.
- pathogène pour l'homme (classes 1 à 4) et/ou pour l'environnement (OGM classes 1 à 4 et groupe E).

□ Collecte

- emballage identifié (logo risque biologique), étanche, résistant, avec un système de fermeture et de préhension efficace et d'une capacité adaptée,
- compactage interdit,
- transvasement à éviter,
- regroupement des déchets pour réduire le temps d'élimination (voir durée de stockage).

□ Stockage

• Locaux

Les locaux de stockage doivent être réservés à l'entreposage de ce type de déchets et signalisés. Ils doivent être correctement ventilés et protégés contre les intempéries et la chaleur, intégralement lavables et décontaminables et entretenus régulièrement. Ils doivent être conçus pour prévenir l'intrusion des animaux.

Ils doivent comporter : une cuvette de rétention, un point d'eau, des murs et un sol continus, des matériaux résistants et facilement lavables, un éclairage suffisant, des extincteurs, des congélateurs et réfrigérateurs, l'affichage de consignes, des protections individuelles, du matériau absorbant.

• Méthode

La congélation est interdite sauf :

- > pour les pièces anatomiques : congélation puis élimination régulière ou stockage entre 0°C et 5°C avec élimination sous 8 jours,
- > pour les déchets mixtes (biologiques et radioactifs de demi-vie courte) : décroissance avant élimination.

• Durée

Pour les déchets solides contaminés (classes 2, 3 et 4) ou OGM :

- > 72 heures si la production est supérieure à 100 kilos par semaine,
- > 7 jours pour une production entre 5 et 100 kilos par semaine,
- > 3 mois pour une production inférieure ou égale à 5 kilos par mois.

• Traitements

Il existe différents types de traitements qui, selon la nature du déchet, pourront être mis en œuvre seuls ou associés :

- > Inactivation chimique (exemple : eau de javel) ou/et thermique (autoclave) : il faudra tester l'efficacité de ces procédés,
- > Traitement interne autorisé si le procédé de désinfection est homologué,
- > Incinération dans un centre de traitement agréé.

• Filières d'élimination

- > Crématorium,
- > Etablissement d'équarrissage,
- > Déchets d'activités de soin (DAS),
- > Déchets industriels banals (DIB).

Traitements et filières d'élimination des déchets biologiques

Nature	Piquants/coupants		Matériel de laboratoire, litières d'animaux, pièces anatomiques d'animaux, liquides biologiques			Déchets anatomiques humains non reconnaissables
	Non contaminés	Contaminés par OGM de classe 1 et agents de classe 2 ou 3	Non contaminés	Contaminés par des OGM de classe 1	Contaminés par des agents de niveau 2 ou 3 Pièces anatomiques non reconnaissables d'animaux infectés ou non Liquides biologiques d'origine humaine ou simienne infectés ou non	
Traitement interne	Sans objet	Inactivation thermique	Sans objet	Inactivation thermique	Inactivation chimique ou thermique	Inactivation chimique ou thermique
Filière d'élimination	DAS	DAS	DIB Egout si liquide	DIB Egout si liquide	DAS	DAS

Nature	Déchets anatomiques humains facilement reconnaissables	Animaux sains ou infectés : pièces anatomiques facilement reconnaissables ou cadavres	Déchets liquides	
			Non contaminés	Contaminés par OGM de classe 1 et agents de classe 2 ou 3
Traitement interne	Sans objet	Sans objet	Sans objet	Inactivation chimique ou thermique
Filière d'élimination	Crématorium	DAS Service d'équarrissage (Si > 40kg)	Egout	Egout

Inspection générale d'hygiène et de sécurité

1, place Aristide-Briand
92195 Meudon Cedex
Téléphone : 01 45 07 55 05
Fax : 01 45 07 53 03
Internet : www.sg.cnrs.fr/ighs



CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
3, RUE MICHEL-ANGE 75794 PARIS CEDEX 16 • TÉL. 01 44 96 40 00 • TÉLÉCOPIE 01 44 96 50 00