

Les spécifications signalées par un astérisque (*) sont optionnelles :

Il est important de noter que certaines spécifications, qui précédemment étaient obligatoires, sont devenues optionnelles. Cela ne signifie nullement que le libre choix est laissé aux laboratoires d'appliquer ou non ces mesures de confinement ou de protection. En effet, ce texte souligne à plusieurs reprises l'importance des démarches d'évaluation des risques et de validation des méthodes de travail, et ce sont ces démarches, prenant en compte tous les facteurs de risque (agents pathogènes, protocoles expérimentaux, étapes...) qui détermineront l'application des mesures optionnelles.

Mesures techniques

Conception

- marquage du niveau de confinement et pictogramme « danger biologique » à l'entrée du laboratoire,
- accès réglementé et verrouillable. Les noms du responsable du L3 et des personnes autorisées seront affichés sur la porte,
- vestiaire séparé et destiné aux effets personnels,
- accès au laboratoire par un sas comportant :
 - des portes asservies ne pouvant pas s'ouvrir simultanément
 - des vestiaires pour permettre de changer de blouse et de s'équiper des protections individuelles nécessaires aux manipulations.
- maintien du L3 en dépression par rapport aux zones voisines (minimum $\Delta = -15$ Pa). Prévoir une alarme pour signaler tout changement de pression,
- présence d'une fenêtre, incassable et fermée hermétiquement, permettant de voir les occupants,
- filtration de l'air, entrant et extrait, par un filtre absolu type HEPA,
- moyen de communication avec l'extérieur du local (téléphone, interphone) : ne pas l'utiliser avec les gants servant à l'expérience en cours,
- espace convenable pour chaque manipulateur,
- ventilation du local par un système d'aspiration mécanique,
- surfaces lisses (murs, sols, paillasse) facilement



lavables et décontaminables,

- absence d'endroit difficilement accessible au nettoyage (ex. : plinthes),
- local devant être fermé hermétiquement pendant l'exécution du travail,
- étanchéité du local pour en permettre la désinfection.
- système de ventilation de secours*.
- énergie électrique de secours* vivement conseillée.

Aménagements internes

- vêtements de protection appropriés,
- surfaces imperméables à l'eau, faciles à nettoyer et résistantes aux agents de nettoyage et de désinfection,
- évier ou lavabo à commande non manuelle permettant la récupération des effluents. Placer à proximité un distributeur de papier absorbant pour le séchage des mains.
- douche* pour permettre la décontamination du personnel en cas d'accident (de préférence dans le sas ou à proximité du L3).
- système permettant l'inactivation des effluents des éviers et des douches,
- poste de sécurité microbiologique de type II (PSM type II),
- cages, moyens de contention, procédures d'euthanasie appropriées aux espèces animales,
- moyens de lutte efficace contre les rongeurs et insectes,
- autoclave à double entrée ou à proximité immédiate si mise en place de procédures validées et contrôlées.

- centrifugeuse et étuve à l'intérieur du local,
- 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.

Pratiques opératoires

- former et informer sur les risques pour la santé et les prescriptions en matière d'hygiène (y compris pour le personnel chargé de la maintenance/nettoyage),
- tenir à jour un cahier d'enregistrement de la date des expériences et du matériel biologique manipulé,
- il est recommandé de ne pas travailler seul,
- appliquer les bonnes pratiques de laboratoire :
 - > porter une blouse. Il est conseillé d'en avoir une spéciale, facilement identifiable (par ex. de couleur), qui sera retirée après manipulation et restera dans le sas, L'utilisation de blouses jetables est vivement recommandée.
 - > porter obligatoirement des gants, une coiffe et des surbottes ; le port de masque(1)(2) et / ou de lunettes(1) est optionnel et dépend de la manipulation,
 - > porter des chaussures différentes des chaussures de ville,
 - > se laver les mains avant et après manipulation,
 - > ne pas décapsuler les crayons feutre avec les dents,
- > ne pas pipeter à la bouche ni sentir les cultures,
- > ne pas boire, manger, fumer, se maquiller et manipuler des lentilles de contact,
- > recouvrir la paillasse d'un papier absorbant (type BenchKote®),
- > éviter l'emploi d'aiguilles et de matériel en verre,
- > conserver les échantillons/agents pathogènes/ corps/cadavres d'animaux dans des zones sécurisées et clairement indiquées,
- > ne pas garder d'animaux non concernés par l'expérience en cours,
- > désinfecter les plans de travail avant et après manipulation et après toute contamination.
- éviter la création d'aérosols et de gouttelettes :
 - > il est obligatoire de réaliser les opérations générant des aérosols sous PSM de type II : broyage de tissus, ouverture des récipients après centrifugation, homogénéisation...
 - > lors de la remise en suspension d'une préparation de micro-organismes, les aspirations et refoulements successifs à travers la pipette devront être réalisés avec précaution.
 - > 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 est obligatoire lors de centrifugations.
- afficher les consignes de sécurité et la conduite à tenir en cas d'accident et en cas de contamination ; s'assurer qu'elles sont connues.
- rédiger des procédures décrivant :
 - > les méthodes de travail,
 - > les mesures de protection et de prévention,
 - > la liste des opérations à effectuer sous poste de sécurité microbiologique,
 - > les moyens et mesures de nettoyage et de désinfection.
- décontaminer les équipements (centrifugeuse, étuve...) avant les interventions de maintenance, établir une attestation de décontamination et la communiquer aux intervenants,
- mettre en place un système de confinement approprié et validé pour le transfert des échantillons hors L3,
- marquage avant enlèvement, des cadavres d'animaux contaminés par des agents biologiques ou de leur contenant (mention de la maladie présumée),
- ne pas recapuchonner les aiguilles : récupérer les aiguilles et matériels coupants dans une boîte spéciale imperforable « safetybox »,
- privilégier l'utilisation de matériel jetable,
- inactiver les déchets et les agents biologiques présents dans les effluents. Si l'inactivation est effectuée à l'extérieur du local, transférer le matériel dans un conteneur étanche et fermé en respectant au minimum un double emballage. (Notamment en cas d'absence d'autoclave double entrée).

(1) si risque chimique associé

(2) si risque de contamination aérienne