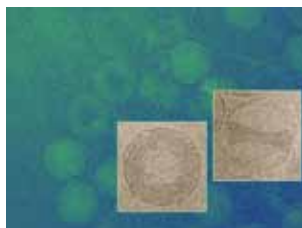


Les cahiers de prévention
Santé • Sécurité • Environnement

Risques biologiques





Photographie de couverture

Après éjection partielle de l'ADN contenu dans la capsid d'un bactériophage (ici T5), déclenchée en présence de son récepteur bactérien isolé et purifié, le segment d'ADN restant dans la capsid est condensé par addition de cations multivalents (spermine 4+). La molécule d'ADN s'effondre alors sur elle-même, formant une structure torique. La micrographie présente une vue d'ensemble de la population de phages observée par cryo-microscopie électronique. Certaines capsides sont pleines, d'autres vides ; la plupart contiennent seulement un fragment de la chaîne initiale. Les encarts montrent les structures toriques en vue latérale et apicale. Le diamètre de la capsid est de 80 nm.

© CNRS Photothèque/LPS/Amélie LEFORESTIER

Toute reproduction intégrale ou partielle ne peut être réalisée sans le consentement des auteurs.

> Navigation dans le document

Vous trouverez au fil des pages des textes surlignés.

Ceux-ci vous permettront de naviguer au sein du document ou d'accéder à des pages internet, d'autres documents PDF...

Lorem ipsum > lien vers une autre rubrique ou une fiche

Lorem ipsum > lien vers une annexe

Lorem ipsum > lien vers un tableau

Lorem ipsum > lien vers un site internet

3^e édition • septembre 2014

Ce document a été réalisé par :

- **Christian BLEUX**

Chercheur biologiste, responsable de la cellule de contrôle des OGMs manipulés en milieu confiné, MENESR.

- **Philippe BRION**

Directeur de l'unité de logistique internationale de services et soutien aux expériences (ULISSE).

Conseiller national à la sécurité des transports de marchandises dangereuses du CNRS.

- **Magali JACQUIER**

Chargée de mission « Expérimentation animale » au CNRS.

Vétérinaire à l'Institut de pharmacologie et de biologie structurale de Toulouse.

- **Patrick MONFORT**

Chercheur au Laboratoire écosystèmes lagunaires de l'Université de Montpellier 2. Membre du comité central d'hygiène, de sécurité et des conditions de travail du CNRS.

- **Simone MUNCH**

Médecin de prévention de la délégation CNRS Alsace.

Médecin coordinatrice adjointe, coordination nationale de la médecine de prévention du CNRS.

- **Stéphane NICOLAS**

Ingénieur régional de prévention et de sécurité, délégation CNRS Provence et Corse.

- **Pascal OLIVIER**

Ingénieur régional de prévention et de sécurité, délégation CNRS Nord-Pas-de-Calais et Picardie.

- **Alice RENÉ**

Responsable de la cellule réglementation bioéthique au CNRS.

- **Natacha VOLTO**

Ingénieur de prévention et de sécurité, coordination nationale de prévention et de sécurité du CNRS.

- **Janine WYBIER**

Coordinatrice nationale adjointe, coordination nationale de prévention et de sécurité du CNRS.

Chargée de mission « Risques biologiques » au CNRS.

SOMMAIRE

1. INTRODUCTION 6

2. LA RÉGLEMENTATION APPLICABLE 8

3. QUELS SONT LES RISQUES ? 9

3.1. LES MATÉRIELS BIOLOGIQUES 9

3.1.1. Définitions réglementaires 9

3.1.2. Classement des agents biologiques (micro-organismes naturels) 9

3.1.3. Les Organismes Génétiquement Modifiés (OGM) 10

3.1.4. Les cultures cellulaires 11

3.1.5. Les échantillons biologiques humains 12

3.1.6. Les animaux 12

3.1.7. Les eaux usées et les boues de traitement 15

3.1.8. Les végétaux et algues toxiques 16

3.2. LES VOIES DE PÉNÉTRATION DANS L'ORGANISME 16

3.2.1. Voie aérienne 16

3.2.2. Voie digestive 17

3.2.3. Voies cutanée et oculaire 17

3.3. AUTRES ÉLÉMENTS A PRENDRE EN COMPTE 17

3.3.1. Personnes susceptibles d'être exposées 17

3.3.2. Circuit de l'agent biologique 17

3.3.3. Postes de travail pour lesquels il est difficile
de mettre en œuvre un confinement 18

3.3.4. Aspects éthiques 18

4. LA PRÉVENTION 19

4.1. MOYENS HUMAINS 19

4.1.1. Formation à la sécurité et information des travailleurs 19

4.1.2. Prévention médicale 19

4.2. MOYENS TECHNIQUES 22

4.2.1. Les confinements 22

4.2.2. Les postes de sécurité microbologique (PSM) : choix et utilisation 22

4.2.3. Les équipements de protection individuelle (EPI) 24

4.3. MOYENS ORGANISATIONNELS 24

4.3.1. Mesures spécifiques pour les niveaux de confinement 2 et 3 24

4.3.2. Les bonnes pratiques de laboratoire (BPL) 25

4.3.3. Pré-désinfection/nettoyage/désinfection/antisepsie/stérilisation 25

4.3.4. Les déchets 27

5. LE TRANSPORT 28

5.1. LES OBLIGATIONS 28

5.1.1. Les obligations et responsabilités de l'expéditeur 28

5.1.2. Les obligations de désignation des produits 29

5.1.3. Les obligations de classification des dangers 29

5.2. LES COLIS 30

5.2.1. Les emballages 30

5.2.2. Le marquage 31

5.2.3. L'étiquetage 31

5.3. IMPORT-EXPORT D'ÉCHANTILLONS BIOLOGIQUES HUMAINS OU DE CELLULES SOUCHES EMBRYONNAIRES 31

5.3.1. Import-Export d'échantillons biologiques humains 31

5.3.2. Import-Export pour les cellules souches embryonnaires humaines 31

Tableaux

1	Groupes de risques : du plus faible (1) au plus important (4).....	9
2	Confinement recommandé selon l'origine des cellules en culture.....	11
3	Exemples d'anthropozoonoses et voies de transmission.....	14
4	Charge en micro-organismes pathogènes dans les boues d'épuration.....	15
5	Modes d'exposition aux aérosols et prévention	16
6	Maladies professionnelles dues à des agents biologiques pathogènes.....	20
7	Liste du CIRC des agents biologiques et toxines en fonction de leur effet cancérogène chez l'homme	21
8	Protection contre le risque biologique selon le type d'enceinte.....	22
9	Récapitulatif des EPI à porter en fonction des agents biologiques manipulés.....	24
10	Les différentes étapes nécessaires à la chaîne de stérilisation.....	26

Annexes

Annexe 1	: Réglementation	32
Annexe 2	: Classement des micro-organismes pathogènes	37
Annexe 3	: Listes des micro-organismes hautement pathogènes et toxines	44

Fiches

1	Déclaration d'utilisation d'agents biologiques pathogènes	47
2	Organismes génétiquement modifiés Critères d'évaluation des risques	49
3	Organismes génétiquement modifiés Dossier OGM : informations utiles.....	50
4	Cultures cellulaires - Critères d'évaluation des risques	52
5	Recherche et bioéthique	53
6	Laboratoires de confinement L1	55
7	Laboratoires de confinement L2	56
8	Laboratoires de confinement L3	58
9	Animaleries de confinement A1	60
10	Animaleries de confinement A2	62
11	Animaleries de confinement A3	64
12	Postes de sécurité microbiologique (PSM)	66
13	Équipements de protection individuelle	68
14	Certificat de décontamination	71
15	Désinfection/stérilisation	72
16	Déchets d'Activité de Soins à Risques Infectieux (DASRI) et assimilés	75
17	Conduites à tenir en cas d'accident	77

1. INTRODUCTION

L'utilisation d'agents biologiques est très fréquente dans les laboratoires de recherche et le développement de thématiques de recherche pluridisciplinaires conduit de plus en plus de personnels non biologistes à en manipuler. L'évaluation du risque biologique est parfois complexe du fait qu'il n'est pas toujours identifié (exposition délibérée ou non), qu'il est parfois mal connu (méconnaissance de la pathogénicité d'un micro-organisme) ou minimisé par les manipulateurs.

Prévenir un risque, c'est d'abord reconnaître le danger et savoir apprécier le niveau d'exposition. Or, si les risques liés à la manipulation de certains agents pathogènes sont bien identifiés, ils restent parfois méconnus et/ou difficiles à évaluer, du fait d'une bio contamination potentielle des matériels biologiques manipulés (comme le sang contaminé par exemple).

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

Les risques liés aux agents biologiques sont :

- des maladies infectieuses, dans la majorité des cas (grippe, salmonellose...);
- des pathologies immuno allergiques : asthme, rhinite, alvéolites allergiques extrinsèques...;
- des pathologies toxiques ;
- des cancers.

De plus, la mise en œuvre de matériel biologique, dans des conditions de sécurité déficientes ou inappropriées, peut conduire à une atteinte à l'environnement par un éventuel rejet accidentel (ou intentionnel dans le cas d'un acte volontaire lié à une malveillance).

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 différentes étapes des protocoles expérimentaux et des quantités utilisées.

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

L'objectif de ce document est d'apporter une aide à cette évaluation ainsi qu'à la mise en œuvre de la prévention, en apportant les informations actuellement connues, et en fournissant des fiches pratiques.

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.
- Ne sont pas traités dans ce document :
 - > les risques liés à une exposition fortuite à du matériel biologique lors de déplacements en mission hors métropole et à l'étranger (ces cas sont traités dans le guide « [Santé Missions & affectations internationales](#) »).
 - > les risques induits sur la santé publique par une dissémination d'un agent biologique pathogène dans l'environnement extérieur.

Le cahier de prévention comporte deux parties :

- **LE CORPS DU DOCUMENT** dans lequel sont présentées des définitions, les différentes étapes nécessaires à l'évaluation des risques (classement des agents biologiques, voies de pénétration...), les principes généraux de prévention répartis en moyens humains, techniques et organisationnels ainsi qu'un rappel des obligations en matière de transport des matières biologiques.
- **DES FICHES PRATIQUES**, numérotées de 1 à 17, permettant de développer et préciser certains aspects ou cas particuliers tels qu'OGM, confinements biologiques, traitement des déchets...

2. LA RÉGLEMENTATION APPLICABLE

La réglementation de portée générale sur la prévention des travailleurs contre les risques résultant de leur exposition à des agents biologiques pathogènes (**décret n°94-352 du 4 mai 1994**) est limitée aux micro-organismes, cultures cellulaires et aux endoparasites humains susceptibles de provoquer une infection, une allergie ou une intoxication.

Ce décret est la transposition française de la **directive 90/679/CEE du conseil du 26 novembre 1990** modifiée, et est retranscrit dans le Code du travail aux articles L. 4421-1 et R. 4421-1 à R. 4427-5.

La réglementation définit les agents biologiques et leur classement en quatre groupes selon la gravité des risques d'infection. Elle 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.

L'employeur 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 transcrits dans le document unique d'évaluation des risques et tenus à la disposition des différents services de prévention.

L'évaluation est notamment réalisée 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.

La prévention devra être fondée sur le respect des principes généraux de prévention ainsi que sur la mise en œuvre de mesures techniques de prévention adaptées, notamment pour ce qui concerne le confinement.

La prévention du risque biologique est encadrée par de nombreux textes réglementaires et normatifs. L'**annexe 1** répertorie la plupart d'entre eux, ainsi que des textes relatifs à des problématiques connexes, telles que l'utilisation d'organismes génétiquement modifiés, l'utilisation de micro-organismes et toxines, la bioéthique, la gestion des déchets...

3. QUELS SONT LES RISQUES ?

3.1. Les matériels biologiques

3.1.1. Définitions réglementaires

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.

3.1.2. Classement des agents biologiques (micro-organismes naturels)

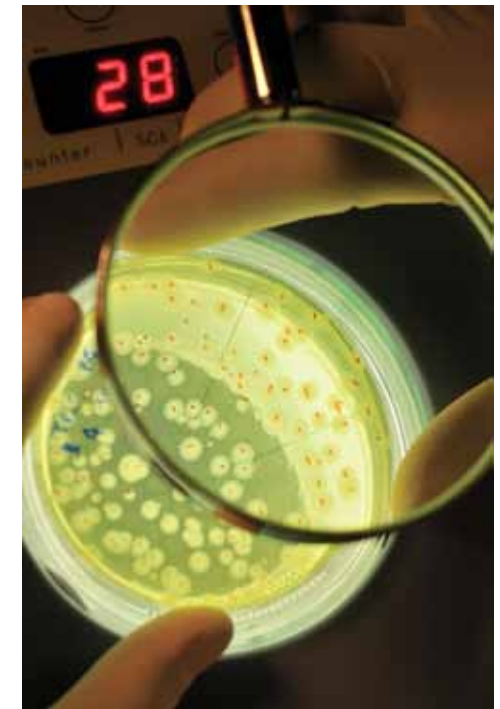
Ce classement concerne les bactéries, les virus, les parasites et les champignons (voir [annexe 2](#)). Ils sont répartis en quatre groupes suivant leur pathogénicité et l'existence ou non d'une prophylaxie ou d'un traitement efficace. Les critères de ce classement sont présentés dans le tableau 1.

La connaissance des agents biologiques et de leur classement conditionne les règles de prévention, notamment les niveaux de confinement 1, 2, 3 ou 4, requis pour leur manipulation (voir [chapitre 4](#)).

À cet effet, il est recommandé de remplir une déclaration d'utilisation d'agents biologiques pathogènes et de la transmettre aux ingénieurs de prévention, CNRS et partenaires ([Fiche 1](#)). Elle fera l'objet d'une mise à jour pour toute première utilisation d'un agent biologique pathogène.

Critère	GROUPE 1	GROUPE 2	GROUPE 3	GROUPE 4
Pathogène chez l'homme	Non	Oui probable	Oui Maladie grave	Oui Maladie très grave
Dangereux pour l'opérateur	Sans objet	Oui Modérément	Oui Risque élevé	Oui Risque très élevé
Propagation	Sans objet	Peu probable	Possible	Risque élevé
Existence d'une prophylaxie ou d'un traitement	Sans objet	Oui	Oui généralement	Non
Exemples	<i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i> non pathogène	Virus de la rougeole <i>Clostridium tetani</i>	VIH, VHB <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Virus Ebola Virus de la variole

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



© CNRS Photothèque/Emmanuel PERRIN

Cas particulier des Agents Transmissibles Non Conventionnels (ATNC ou prions)

Les ATNC sont responsables de maladies dégénératives du système nerveux central. Certains organes sont plus susceptibles d'en contenir : l'évaluation du niveau de risque doit donc tenir compte du potentiel infectieux des tissus concernés.

Les tissus considérés comme infectieux sont, par ordre décroissant d'infectiosité :

1. Le système nerveux central (y compris l'hypophyse, la dure-mère et le liquide céphalo-rachidien).
2. L'œil et le nerf optique.
3. La rate, les ganglions lymphatiques, les amygdales, l'appendice, les plaques de Peyer (et formations équivalentes du gros intestin, du rectum et du carrefour aérodigestif).

Les ATNC résistent à un grand nombre de méthodes de désinfection.

Les voies de contamination connues sont la voie digestive et parentérale. La transmissibilité entre certaines espèces est possible (par exemple homme/bovin, homme/singe...).

Les prions sont inclus dans le classement des agents pathogènes, dans le tableau des virus sous une rubrique « Agents non classiques associés avec des encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles (ESST) ». Ils font partie du groupe de risque 3 sans transmission par voie aérienne.

Cas particulier des Micro-organismes et Toxines hautement pathogènes (MOT)

Les agents désignés sous l'appellation « MOT » sont des agents pathogènes humains et des toxines qui présentent un risque pour la santé humaine, en cas de rejet éventuel, accidentel ou intentionnel, dans l'environnement. Une réglementation spécifique régit les opérations de production, fabrication, transport, importation, exportation, détention, offre, cession, acquisition et emploi de MOT. Ces opérations sont soumises à des conditions et à un régime d'autorisation. L'agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM) délivre les autorisations relatives à toutes ces opérations et peut intervenir pour effectuer des inspections des installations dans lesquelles les opérations sont réalisées.

La liste des MOT est fixée par un arrêté : elle comprend en grande majorité des agents pathogènes des groupes 3 et 4 (voir [annexe 3](#)).

3.1.3. Les Organismes Génétiquement Modifiés (OGM)

Ce sont des organismes vivants dont le matériel génétique a été modifié d'une manière qui ne s'effectue pas naturellement par multiplication et/ou par recombinaison naturelle.

Comme les agents biologiques naturels, les OGM sont classés en 4 groupes, en fonction des risques qu'ils présentent pour la santé publique ou pour l'environnement. Chaque groupe définit la classe de confinement dans laquelle l'OGM doit être manipulé.

La [fiche 2](#) explicite les critères de classement des OGM.

Les 4 classes de confinement (C1 à C4) :

- La classe de confinement 1 est constituée des opérations mettant en œuvre des OGM du groupe I et dont le risque pour la santé humaine et pour l'environnement est nul ou négligeable.
- La classe de confinement 2 est constituée des opérations mettant en œuvre des OGM du groupe II et dont le risque pour la santé humaine et pour l'environnement est faible.
- La classe de confinement 3 est constituée des opérations mettant en œuvre des OGM du groupe III et dont le risque pour la santé humaine et pour l'environnement est modéré.

- La classe de confinement 4 est constituée des opérations mettant en œuvre des OGM du groupe IV et dont le risque pour la santé humaine et pour l'environnement est élevé.

Depuis 2009, le « comité scientifique » du Haut Conseil des Biotechnologies (HCB) statue sur la classe de confinement dans laquelle un OGM doit être mis en œuvre.

Dans la grande majorité des cas, la classe de confinement de l'OGM est identique à son groupe de pathogénicité. Si les caractéristiques de l'opération exigent un niveau de confinement différent de celui qu'entraîne ce classement, chaque opération de mise en œuvre d'un OGM peut être rangée, sur avis du HCB, dans une autre classe de confinement que celle prévue par ledit classement. Ainsi différentes classes de risque, donc de confinement, peuvent correspondre à un même OGM.

Les principales opérations de mise en œuvre d'un OGM sont :

- l'établissement d'une banque à partir d'un organisme donneur,
- le clonage, l'isolement et la caractérisation de la séquence concernée,
- l'introduction de cette séquence chez un organisme receveur.

La fiche 3 fournit des données utiles pour aider à la constitution d'un dossier OGM.

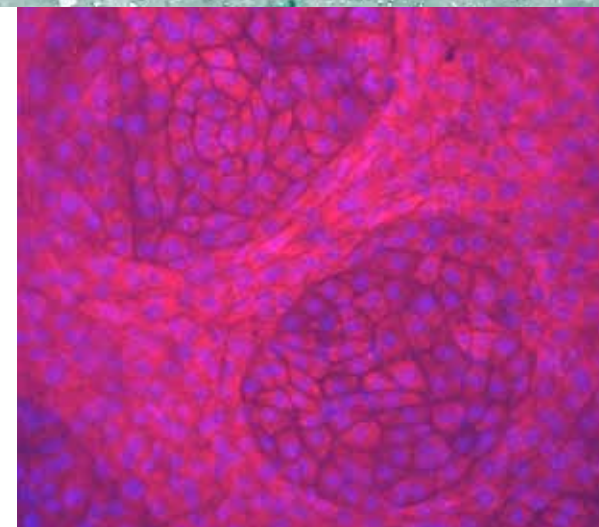
3.1.4. Les cultures cellulaires

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 tableau 2 présente les recommandations de confinement selon l'origine des cellules.

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

Pour certaines lignées cellulaires, l'ATCC (American Type Culture Collection), par exemple, recommande



© CNRS Photothèque/Yacine LAABI, Yves Édouard HERPE

un niveau de confinement associé (par exemple : niveau 2 pour HeLa, COS-1, HEK 293T...).

Les critères essentiels d'évaluation du risque sont la distance phylogénétique, la vitesse de division et le mode d'immortalisation (Fiche 4).

Origine des cellules		Niveau de confinement
Petits animaux de laboratoire (non infectés expérimentalement)		L1
Animaux sauvages (selon l'espèce et l'origine géographique)		L2 minimum
Bovins	tissus nerveux ou lymphoïdes, si statut sanitaire reconnu sans danger	L2
	autres tissus, si statut sanitaire reconnu sans danger	L1
	si soupçon d'encéphalopathie spongiforme	L3
Singes	si contrôles négatifs SIV, Herpès B, hépatites et tuberculose	L2
	si contrôles non faits ou positifs	L3
Hommes	absence de soupçon d'infection par un agent biologique des groupes 3 ou 4	L2
	soupçon d'infection par un agent biologique des groupes 3 ou 4	L3 ou L4

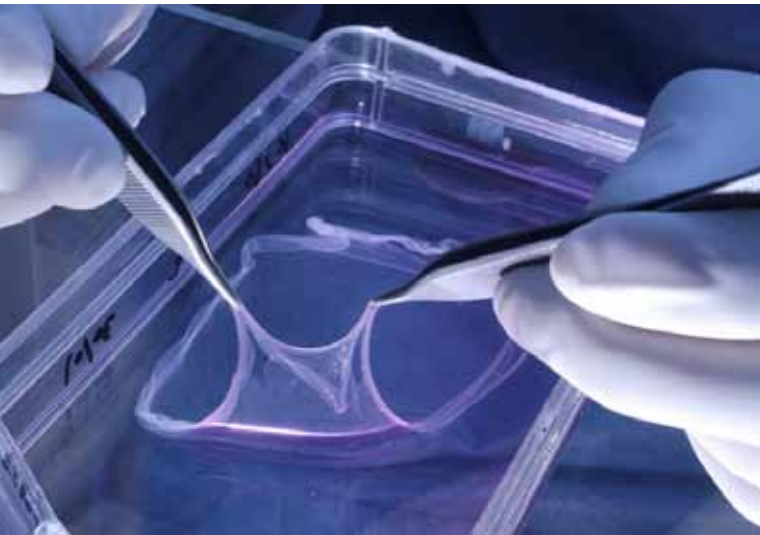
Tableau 2 Confinement recommandé selon l'origine des cellules en culture (d'après l'Inserm)

3.1.5. Les échantillons biologiques humains

Les critères d'évaluation du risque sont :

- La nature du matériel biologique (sang, salive, urine, foie, rein...).
- 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...).



© CNRS Photothèque/Hubert RAGUET



- Tout matériel d'origine humaine ou tout matériel pour lequel il existe une incertitude sur la présence de pathogènes doit être considéré comme potentiellement dangereux et manipulé au minimum en confinement de niveau 2, sous poste de sécurité microbiologique (PSM) de type II.
- Des tests de dépistage doivent être réalisés systématiquement pour les agents pathogènes : VIH, VHB, VHC, HTLV1. Cependant, il est impossible de dépister tous les pathogènes potentiellement présents. De plus, il arrive que le résultat des dépistages soit connu une fois la manipulation déjà effectuée.
- Il est fortement conseillé d'établir des conventions entre l'établissement fournisseur des échantillons biologiques et le laboratoire de recherche, à l'image de celles qui sont établies avec l'établissement français du sang (EFS) ou les établissements de transfusion sanguine (ETS), à leur demande, lors de la cession de produits sanguins à usage non thérapeutique.
- 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 ce matériel. À ce risque s'ajoutent des problèmes liés à l'éthique (non-anonymat du donneur, apparition a posteriori d'une maladie transmissible chez le donneur...).

➤ Information des personnes donneuses

Le prélèvement et/ou l'utilisation de matériel d'origine humaine à des fins de recherche sont soumis à un non-refus par la personne donneuse. Lorsque celle-ci est vivante, son acceptation est nécessaire et passe par son information préalable ainsi que l'obtention de sa non-opposition ou de son consentement, selon le cadre dans lequel est effectué le prélèvement.

Sauf dérogation autorisée expressément, le consentement sera recueilli sous forme écrite. L'anonymisation des échantillons est obligatoire sauf cas exceptionnel.

3.1.6. Les animaux

On distingue les animaux :

- conventionnels pouvant être porteurs de n'importe quel micro-organisme, pathogène ou non,
- exempts d'organismes pathogènes spécifiques (EOPS ou SPF) pour l'espèce considérée,
- exempts d'organismes pathogènes ou opportunistes (SOPF : specific opportunist and pathogen free),
- génotoxéniques : abritant une flore connue, et exclusivement celle-là,
- mutants (exemple souris nude),
- transgéniques, c'est-à-dire possédant dans son génome un ADN étranger (transgénèse additionnelle) ou ayant un génome dépourvu d'un gène spécifique (souris knock-out).

Le classement des animaux dépend de la présence ou non d'un agent contaminant ou d'une modification de leur génome.

Les risques rencontrés au contact des animaux peuvent être classés en trois groupes :

- risque infectieux :
 - > contamination avec l'agent biologique utilisé lors de l'expérimentation entreprise sur l'animal,
 - > anthroozoonoses (voir tableau 3) ;
- risque allergique : via aérosol (urine, litière) ;
- risque traumatique : par blessure, morsure, griffure ou injection de produits dangereux (adjuvant, anesthésique).

Le risque infectieux est le risque majeur. 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 ou l'eau de boisson.

Dans les animaleries de laboratoire, ce risque est faible. En effet, les animaux proviennent d'élevages agréés et contrôlés, et des contrôles sanitaires réguliers sont réalisés. Le risque est plus important lors des programmes de recherche sur les animaux de la faune sauvage. Dans ce cas, il faudra veiller à s'équiper des protections individuelles adaptées à l'animal concerné.

Le risque allergique est aussi très important, dû notamment au contact avec l'urine des rongeurs et des litières utilisées. Les différents allergènes

sont présents dans les poils, plumes, griffes, salive et urine des animaux. Mais peuvent également être en cause des acariens, des poussières, des endotoxines et les litières, ainsi que certains produits utilisés.

Les allergies peuvent se manifester par une rhinite, un larmolement et un prurit oculaire, des signes cutanés ou pulmonaires (asthme, survenant habituellement quelques mois ou années après la rhinite).

Il ne faut pas négliger le rôle de cofacteurs associés tels que certains désinfectants ou les poussières

de bois qui entrent dans la composition des litières (copeaux de bois) et qui peuvent être des facteurs irritants.

À l'heure actuelle, différentes études ont montré que le facteur de risque d'allergie le plus important serait le degré d'exposition aux rongeurs (donc les conditions de travail), en particulier lors du nettoyage des cages et de la manipulation des rongeurs.

Enfin, le risque traumatique pourra être diminué par l'apprentissage d'une gestuelle adaptée à l'espèce animale manipulée.



Tableau 3 Exemples d'anthropozoonoses et voies de transmission

Voies de transmission	Affections	Espèces animales
Morsures	Infections à Herpes virus B	Singe asiatique
	Fièvre par morsure de rat	Rongeurs (surtout rats)
	Pasteurellose	Rongeurs, chiens, chats
	Rage	Tous mammifères
Cutanée (sans effraction)	Leptospirose	Rongeurs, chiens
	Tularémie	Lagomorphes, rongeurs
	Mycoses	
Griffure ou piqûre	Tuberculose	Primates et nombreux mammifères
	Herpes virus B	Singe asiatique
	Tularémie	Lagomorphes
	Pasteurellose	Rongeurs, chiens, chats
	Erysipéloïde	Poissons, porcs
	Hépatite B	Primates
Projections conjonctivales	Tuberculose	Primates et nombreux mammifères
	Tularémie	Lagomorphes, rongeurs
Inhalations (aérosols infectieux)	Psittacose	Oiseaux, psittacidés (oiseaux grimpeurs)
	Chorioméningite lymphocytaire	Rongeurs
	Encéphalomyocardite	Rongeurs
	Fièvres hémorragiques	Rongeurs
Ingestion	Amibiase, shigellose, yersiniose	Primates
	Hépatite A	Primates et nombreux mammifères
	Salmonellose	Serpents
Morsures ou piqûres de tiques	Certaines arboviroses	Rongeurs, tiques
	Borrélioses, rickettsioses	Tiques

Cas particulier 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 du groupe 1,
- animaux susceptibles de relarguer des particules virales du groupe 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 et l'environnement,
- animaux susceptibles de relarguer des particules virales du groupe 2.

Classe 3 :

- animaux susceptibles de relarguer des particules virales du groupe 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 du groupe 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 et du milieu de vie.

Les règles à respecter concernant les animaux sont détaillées dans le guide intégralement disponible sur internet à l'adresse suivante : <http://ethique.ipbs.fr/sdv/index.html>

Tableau 4 Charge en micro-organismes pathogènes dans les boues d'épuration (ADEME, 1994 CSHPF, 1998)

Œufs d'helminthes	Boues primaires Boues digérées Boues semi-déshydratées	$10^3 - 10^4$ /kg $10^2 - 10^3$ /kg $10^1 - 10^3$ /kg
Kystes de protozoaires (<i>Giardia</i>)	Boues primaires Boues digérées Boues déshydratées	$7.7 \cdot 10^4 - 3 \cdot 10^6$ /kg $3 \cdot 10^4 - 1 \cdot 10^3$ /kg $7 \cdot 10^1 - 10^2$ /kg
Entérovirus	Boues primaires Boues activées Boues épaissies	nd - 10^3 NPPUC/10 g nd - 270 NPPUC/10 g nd - 72 NPPUC/10 g
Bactéries (<i>Salmonella</i>)	Boues primaires Boues secondaires	$10^2 - 10^3$ /g $9 \cdot 10^2$ / g
Bactéries (Coliformes fécaux)	Boues primaires Boues secondaires Boues digérées	$10^7 - 10^8$ /g 10^6 / g $10^2 - 10^6$ /g

nd : non détecté ; NPPUC : nombre le plus probable d'unités cytopathiques

3.1.7. Les eaux usées et les boues de traitement

Les eaux usées et les boues de traitement véhiculent des micro-organismes pathogènes et des substances chimiques (ions métalliques, nitrates, hydrocarbures et autres solvants...).

Les principaux micro-organismes présents dans les boues de traitement sont présentés dans le tableau 4.

3.1.8. Les végétaux et algues toxiques

Le risque principal pour l'homme est le risque d'allergie (aux pollens notamment, ou aux moisissures, type fusarium, qui se développent sur les plantes).

Il peut exister aussi un risque mécanique par contact, dû à la présence d'épines (piqûre), ou de poils urticants (irritations).

Enfin, certaines plantes peuvent être toxiques, mais le plus souvent en cas d'ingestion, et beaucoup plus rarement à leur contact (certains arums, ancolie...). Il existe également des micro-organismes producteurs de toxines (certaines algues de type « dinoflagellés », certaines cyanobactéries).

Toute évaluation des risques devra prendre en compte à la fois les risques potentiels pour les manipulateurs et également pour l'environnement au sens large.

3.2. Les voies de pénétration dans l'organisme

3.2.1. Voie aérienne

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

- par gouttelettes de grandes tailles ($> 5\mu\text{m}$), se projetant sur des distances courtes ($< 1\text{ m}$) et pouvant se déposer sur les conjonctives, muqueuse buccale ou nasale (virus de la grippe, VRS, pneumocoque, *B. pertussis*...),
- par aérosols (particules $< 5\mu\text{m}$) sous forme de gouttelettes asséchées ou de poussières contenant des micro-organismes assez résistants dans l'environnement, véhiculables sur des distances assez longues (plusieurs dizaines de mètres) et pouvant être inhalés (agents infectieux de la tuberculose, de la variole, de la rougeole, du charbon...).
- Les principales actions génératrices d'aérosols sont présentées dans le tableau 5.

3.2.2. 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.

Tableau 5 Modes d'exposition aux aérosols et prévention

Action	MODE D'EXPOSITION	PRÉVENTION
Centrifugation	À l'ouverture du tube	Laisser reposer la suspension avant ouverture Ouvrir sous PSM
	Tube cassé	Équilibrage des tubes
Ultracentrifugation	À l'ouverture du rotor, en cas d'utilisation de tubes non bouchés	Ouvrir le rotor sous PSM
Homogénéisation au vortex	Aérosol si tube ouvert	Utiliser des tubes bouchés
Sonication, broyage	Aérosol si contenant (tube, flacon de culture...) ouvert	Placer l'appareil dans une enceinte Utiliser des contenants fermés Laisser reposer la suspension avant ouverture Ouvrir sous PSM
Pipetage	Aérosol dû à la présence d'air dans la pipette	Ne pas expulser violemment le liquide de la pipette Laisser couler le liquide le long du tube
Flambage (pipette, anse d'ensemencement)	Génération d'aérosol lors du passage à la flamme	Ne pas flamber (car peu efficace) Utiliser du matériel jetable
Manipulation de litières contaminées par un pathogène	Génération de poussières lors du changement des litières	Porter des masques de protection FFP2 ou 3

3.2.3. Voies cutanée et oculaire

La contamination peut se faire par projection dans l'œil, ou sur peau saine et surtout lésée mais également à la suite d'une piqûre, coupure, morsure, griffure. Certains pathogènes peuvent traverser la peau saine, soit naturellement

(*Shistosoma mansoni*), soit si un produit facilite le passage par la peau (DMSO qui perméabilise la peau).



© CNRS Photothèque/Sébastien GODEFROY

3.3. Autres éléments à prendre en compte

3.3.1. Personnes susceptibles d'être exposées

Les manipulateurs ne sont pas les seules personnes susceptibles d'être exposées du fait de la présence d'agents biologiques pathogènes. Peuvent également être exposés :

- Les manipulateurs non concernés par la manipulation en cours, mais amenés à travailler dans le même local de confinement, et ce, suite à un événement indésirable (bris de tube sur le sol, dans une centrifugeuse, contamination d'un bain-marie, d'une étuve...).
- Le personnel de maintenance/d'entretien (intervention sur le réseau électrique, réparation d'une centrifugeuse contaminée, changement d'une bouteille de CO₂...), interne ou appartenant à une entreprise extérieure, maîtrisant mal le risque biologique, peu sensibilisé à ce risque la plupart du temps ou n'ayant pas la même sensibilité, n'ayant pas l'habitude de travailler en présence de ce risque/non formé à ce risque. Ce personnel devra être formé avant toute intervention dans un local de confinement.
- Les autres personnels du laboratoire (secrétariat...). Le non-respect des consignes et des bonnes pratiques de manipulation (non lavage des mains, ouverture d'une porte avec des gants potentiellement contaminés, sortie du local avec la blouse spécifique au confinement...) peut entraîner leur

contamination. De plus, certains peuvent être plus sensibles à l'action d'un pathogène du fait de leur état de santé (femme enceinte, personnes immunodéprimées...).

- Les proches (enfants, personnes âgées...). En effet, une blouse ramenée à la maison ou un vêtement contaminé peut entraîner leur contamination.

3.3.2. Circuit de l'agent biologique

L'évaluation du risque ne se cantonne pas à la seule manipulation du pathogène, mais doit prendre en compte l'ensemble des étapes du protocole expérimental au sein et hors de l'unité de recherche.

- 1) Arrivée-Départ : quelle est la provenance de l'agent biologique ? A-t-on les autorisations nécessaires (ANSM, OGM, Import-export...) ? Quelles sont les conditions de transport ?
- 2) Stockage : les conditions de stockage sont-elles sécurisées ?
- 3) Transport interne : quelles sont les conditions de transport du lieu de stockage vers le(s) lieu(x) de manipulation ?
- 4) Manipulation : tout équipement utilisé pour manipuler l'agent biologique fait-il l'objet de consignes d'utilisation et de sécurité adaptées (utilisation du PSM, désinfection des bains-marie...) ?
- 5) Mise en déchets : quelles sont les procédures à respecter (inactivation, type de contenants, durée du stockage avant élimination...) ?

3.3.3. Postes de travail pour lesquels il est difficile de mettre en œuvre un confinement

Il s'agit de l'utilisation de certains équipements (microscopes, trieurs de cellule, ultracentrifugeuses, presses de french, sonicateurs...) ou de certaines activités (changement de litière contaminée...).

Dans ces cas-là, l'évaluation des risques doit être approfondie afin de trouver, au cas par cas, des mesures de prévention compensatoires de types :

- humains (formation spécifique, consignes d'utilisation...),
- techniques (renforcement du port des EPI, fabrication de matériel de confinement sur mesure...),
- organisationnels (local réservé, fréquences de désinfection augmentées...).

3.3.4. Aspects éthiques

La plupart des activités de recherches sont encadrées par des principes éthiques tels que la bienveillance, le respect de l'autonomie...

Ainsi, toute recherche faisant intervenir une ou des personnes (étude de comportement, étude physiologique...), des données personnelles (questionnaires, données médicales, résultats

d'analyse biologique...) ou l'utilisation des animaux à des fins scientifiques doit répondre à des préoccupations éthiques.

Ces règles ainsi que les modalités pratiques de demande d'expérimentation sont présentées dans la fiche 5 (recherche et éthique). Elles s'appliquent aux recherches relatives aux sciences du vivant, et ce, dans trois grands domaines : la recherche sur les éléments du corps humains, la recherche biomédicale et la recherche sur les cellules souches embryonnaires humaines¹.

Chacun de ces domaines est régi par des textes réglementaires distincts. Néanmoins, le principe éthique de base, impératif, est le consentement libre et éclairé du sujet qui accepte de participer à la recherche.

Cas particulier des recherches sur l'embryon et les cellules souches embryonnaires humaines

Les recherches sur les cellules souches embryonnaires humaines sont autorisées en France mais strictement encadrées. Seuls les embryons surnuméraires créés lors d'une aide médicale à la procréation (ne faisant plus l'objet d'un projet parental) peuvent être utilisés pour la recherche, avec le consentement des parents.

En application des dispositions du code de la santé publique, l'agence de la biomédecine est compétente pour délivrer les autorisations relatives aux demandes :

- de protocoles d'études ou de recherches sur l'embryon ou les cellules souches embryonnaires humaines.
- d'importation et d'exportation de cellules embryonnaires à des fins de recherche. Cette autorisation est délivrée pour chaque opération envisagée et est valable 2 ans.
- de conservation à des fins scientifiques de cellules souches embryonnaires humaines.

L'agence de la biomédecine reçoit également les déclarations pour les recherches sur les tissus ou cellules fœtaux à l'issue d'une interruption de grossesse.

Import-Export d'échantillons biologiques humains ou de cellules souches embryonnaire

L'import-export des cellules souches embryonnaires humaines et des échantillons biologiques humains sont décrits dans la partie concernant le transport.

¹ L'éthique de l'utilisation des animaux à des fins scientifiques n'est pas abordée dans ce chapitre.

4. LA PRÉVENTION

4.1. Moyens humains

4.1.1. Formation à la sécurité et information des travailleurs

Une formation doit être dispensée avant que les travailleurs n'exercent une activité impliquant un contact avec les 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...) et pour prévenir les incidents et les accidents (cahier de laboratoire, procédures de travail, consignes...),
- 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,
- la conduite à tenir 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, expérimentation animale...). Enfin, une attention particulière est portée au personnel de laverie qui doit être informé des risques biologiques auxquels il est susceptible d'être exposé.

4.1.2. Prévention médicale

L'exposition au risque biologique relève de la surveillance médicale particulière, c'est-à-dire d'une visite médicale à la prise de poste et, par la suite, d'un suivi annuel. Le suivi médical repose à la fois sur l'évaluation des risques (dans nos établissements, par le biais d'une fiche individuelle des risques et conditions de travail – FIRCT), et par l'examen clinique.

La consultation médicale permet en particulier d'interroger la personne sur un terrain allergique, des maladies cutanées ou respiratoires, des traitements immunosuppresseurs, une grossesse en cours... L'objectif de la FIRCT est la mise en perspective des principaux risques professionnels. Consultation médicale et FIRCT permettront, en particulier, de mettre à jour les vaccins recommandés lors de certains travaux exposants (virus de l'hépatite B, rage...) et de prescrire des examens complémentaires appropriés.

À la lumière de l'examen médical et de l'évaluation du risque, le médecin de prévention se prononce sur la compatibilité entre l'état de santé de l'agent et son poste de travail. Le cas échéant, il pourra proposer des aménagements de poste ou établir des restrictions.

Dans le cas où un vaccin existe pour un agent pathogène donné, toute personne refusant cette vaccination peut se voir interdire la manipulation de l'agent biologique concerné.

Il existe actuellement dans le régime général de la Sécurité sociale, 21 tableaux de maladies professionnelles relatifs au risque infectieux, deux tableaux pour le risque immuno-allergique et un tableau pour le risque toxinique. Chaque tableau comporte en particulier la maladie ou les symptômes en relation avec l'agent biologique ainsi qu'une liste indicative ou limitative des travaux susceptibles d'en être à l'origine. Dans la fonction publique, la reconnaissance d'une maladie professionnelle se base en grande partie sur ces informations.

La liste de ces maladies professionnelles est présentée dans le tableau 6.

Tableau n°	MALADIES PROFESSIONNELLES
RISQUE INFECTIEUX	
7	Tétanos professionnel
18	Charbon
19	Spirochètoses (leptospirose, maladie de Lyme)
24	Brucellose
28	Ankylostomose
40	Tuberculose et autres infections à mycobactéries
45	Hépatites A, B, C, D et E
46	Mycoses cutanées
53	Rickettsioses et fièvre Q
54	Poliomyélite
55	Infections dues aux amibes
56	Rage
68	Tularémie
76	Maladies dues à des agents infectieux contractés en milieu d'hospitalisation et d'hospitalisation à domicile
77	Périonyxis et onyxis
80	Kératoconjunctivites virales
86	Pasteurelloses
87	Ornithose-psittacose
88	Rouget du porc
92	Infections à <i>Streptococcus suis</i>
96	Infections à hantavirus
RISQUE IMMUNO-ALLERGIQUE	
66	Rhinites et asthmes
66 bis	Pneumopathies d'hypersensibilité
RISQUE TOXINIQUE	
90	Affections respiratoires consécutives à l'inhalation de poussières textiles végétales

Tableau 6

Maladies professionnelles dues à des agents biologiques pathogènes

De plus, certains agents pathogènes sont associés (ou soupçonnés d'être associés) à la survenue de certains cancers. Ces agents ont été classés par le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC) en fonction de leur effet cancérigène chez l'homme (tableau 7).

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.

Recommandation importante pour la femme enceinte

Bien que la réglementation n'impose une interdiction absolue d'exposition que pour le virus de la rubéole et *Toxoplasma gondii*, il existe de nombreux autres agents biologiques pouvant avoir des effets néfastes sur la grossesse ou pour l'enfant à naître.

En conséquence, il est important pour la femme enceinte de déclarer sa grossesse au plus tôt au médecin de prévention, afin d'évaluer, le cas échéant, les mesures d'éviction ou les aménagements de poste à mettre en place.

<p>Groupe 1 cancérigène pour l'homme</p>	<p>Mélanges naturels d'aflatoxines <i>Helicobacter pylori</i> (infection à) Papillomavirus humain types 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 VIH de type 1 (infection par le) Virus d'Épstein-Barr Virus humain de la leucémie à cellules T, type 1 (HTLV1) Virus de l'hépatite B (infection chronique par) Virus de l'hépatite C (infection chronique par) <i>Opisthorchis viverrini</i> (infestation à) <i>Schistosoma haematobium</i> (infestation à)</p>
<p>Groupe 2A probablement cancérigène pour l'homme</p>	<p><i>Clonorchis sinensis</i> (infestation à) Herpesvirus humain n° 8 (sarcome de Kaposi)</p>
<p>Groupe 2B peut être cancérigène pour l'homme</p>	<p>Aflatoxine M1 Toxines dérivées du <i>Fusarium moniliforme</i> (fumonisine B1 et B2, fusarine C) <i>Schistosoma japonicum</i> (infestation à) VIH de type 2 (infection par) Papillomavirus humain des types 6, 11 Papillomavirus humain genre (quelques types) Ochratoxine A Stérigmatocystine</p>
<p>Groupe 3 inclassable quant à sa cancérigénicité pour l'homme</p>	<p>Extraits de <i>Microcystis</i> (cyanobactérie) <i>Opisthorchis felinus</i> (infection à) <i>Schistosoma mansoni</i> (infestation à) Toxines des <i>Fusarium graminearum</i>, <i>F. culmorum</i> et <i>F. crookwellense</i> : zéaralénone, déoxynivalénone, nivalénone, et fusarénone X Toxines du <i>Fusarium sporotrichioides</i> : toxine T-2 Virus de l'hépatite D Virus humain de la leucémie à cellules T, type 2 (HTLV2)</p>

Tableau 7

Liste du CIRC des agents biologiques et toxines en fonction de leur effet cancérigène chez l'homme

4.2. Moyens techniques

4.2.1. Les confinements

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

Groupe 1 Laboratoire L1/C1* Animalerie A1

Groupe 2 Laboratoire L2/C2* Animalerie A2

Groupe 3 Laboratoire L3/C3* Animalerie A3

Groupe 4** Laboratoire L4/C4* Animalerie A4

* Pour la manipulation des OGM, on parle de confinement C.

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



© CNRS Photothèque/Jérôme Chatin

NIVEAU 1

Il correspond à un aménagement standard (voir la fiche 6 pour les L1 et la fiche 9 pour les A1)

NIVEAUX 2 ET 3

Les aménagements nécessaires à ces deux niveaux sont détaillés dans les fiches 7 (L2), 8 (L3), 10 (A2), 11 (A3).

4.2.2. Les postes de sécurité microbiologique (PSM) : choix et utilisation

Parmi les différents types d'enceintes utilisées dans nos laboratoires, seuls les PSM sont classés pour la protection du manipulateur

contre les risques biologiques. Utilisés dans les conditions requises, ils 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.

Les laboratoires confinés L2 et L3 doivent être équipés d'au moins un PSM de type II.

Type d'enceinte	Protection		
	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 II	Bonne	Bonne	Bonne
PSM III (enceinte fermée en dépression)	Bonne	Bonne	Bonne

Tableau 8 Protection contre le risque biologique selon le type d'enceinte

Caractéristiques des PSM de type II

Les PSM de type II doivent être conformes à la norme EN 12469. De surcroît, en France, ils peuvent répondre aux exigences du règlement de la marque NF, certifiées par le LNE. En conséquence, sur ces équipements, le marquage « CE » est obligatoire et la certification NF est recommandée.

Leur plan de travail est soit plein, soit perforé. Le choix est fait en fonction de la nature des manipulations à réaliser. Un plan de travail perforé offre une meilleure garantie pour les échantillons manipulés, par contre le plan de travail plein offre une meilleure stabilité et évite le passage de contaminants au niveau du bac de rétention (notamment lors d'expérimentations avec des animaux, de renversements accidentels...).

Un PSM, conçu et normalisé avec un type de plan de travail, ne peut en aucun cas être modifié avec l'autre modèle.

Il est recommandé que la largeur des plans de travail soit comprise entre 0,90 m et 1,20 m 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 (au maximum de 65 dB(A) selon la norme).

Le niveau d'éclairage 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 (gainés de soufflage...) et d'obstacles au flux de rejet, loin des ouvertures ou d'un lieu de passage fréquent.

Entre le niveau d'extraction du PSM et le plafond du local, une distance minimale de 20 cm doit être respectée.

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,
- rayon d'efficacité maximum de 30 cm,
- inefficacité sur certains matériels biologiques,
- risque pour le manipulateur en cas d'oubli.



Contrôle des performances

Ce contrôle doit comprendre la vérification :

- de l'état général du PSM par un examen visuel,
- des éléments relatifs à la protection du personnel (cartographie de la vitesse de l'air, test de fumée, fonctionnement des alarmes...),
- des éléments relatifs à la protection du produit (détermination de la classe d'empoussièrement, vérification de l'intégrité des filtres H14...).

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 minimum.

Un contrôle est également effectué après chaque changement de filtre et après toute maintenance du PSM (déménagement par exemple).

Les dates des contrôles et leurs résultats (conformité à la norme) sont à afficher sur la façade des PSM.

La **fiche 12** présente les trois types de PSM ainsi que des conseils pour leur utilisation et leur maintenance.

4.2.3. Les équipements de protection individuelle (EPI)

La blouse constitue la tenue de travail minimale. De plus, les niveaux de confinement déterminent de façon obligatoire le port de certains EPI (chaussures différentes des chaussures de ville en L2 et L3, charlotte en L3...).

Enfin, selon le résultat de l'évaluation des risques, d'autres EPI pourront s'avérer nécessaires (par exemple, en L2, gants uniquement pour les phases à risques).

La **fiche 13** présente les différents types d'EPI et des informations utiles pour leurs choix et utilisation.

Une synthèse du type d'EPI à porter selon le groupe de risque est présentée dans le tableau 9.

PROTECTION	EPI	AGENT BIOLOGIQUE		
		Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3
Corps	Blouse en coton	✓		
	Blouse en matériau non tissé		✓	
	Blouse en matériau non tissé Norme EN 14126 : 2004		✓*	✓
	Surchaussures		✓	✓
	Charlotte		✓*	✓
Mains	Gants EPI de catégorie III		✓*	✓
Yeux et visage	Lunette ou masque	✓*	✓*	✓*
Voies respiratoires	Masque FFP1 ou filtre P1	✓*		
	Masque FFP2 ou filtre P2		✓*	
	Masque FFP3 ou filtre P3			✓

Tableau 9
Récapitulatif des EPI à porter en fonction des agents biologiques manipulés

** Selon les résultats de l'évaluation des risques*

4.3. Moyens organisationnels

4.3.1. Mesures spécifiques pour les niveaux de confinement 2 et 3

Entretien des locaux

Le ménage doit être effectué par les utilisateurs du local confiné.

Toute intervention de personnel extérieur à l'unité (plombier, peintre, entreprise de maintenance...) doit être réalisée en dehors des périodes d'activité et après désinfection des locaux et/ou du matériel. Dans ce cas, un certificat de décontamination doit obligatoirement être établi (fiche 14).

Le responsable du laboratoire doit s'assurer que ce personnel a été informé des risques et connaît les locaux. S'il s'agit d'une entreprise extérieure, il rédigera avec son représentant un plan de prévention.

Maintenance des équipements et des matériels

Il est conseillé de mettre en place des contrats annuels de maintenance pour tous les équipements : installations de traitement d'air, de climatisation, postes 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 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).

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.

Remarque sur les filtres HEPA

Ces filtres équipent les PSM ainsi que les gaines d'entrée et de sortie des centrales de traitement d'air de certains locaux confinés (notamment les L3).

Les opérations d'entretien doivent être réalisées par un spécialiste (contrat d'entretien pour les opérations sur les filtres) en respectant le type de filtre HEPA conseillé par le fabricant. Chaque intervention sera précédée d'une désinfection (voir la [fiche 15](#)).

Ces filtres sont considérés comme des déchets biologiques et doivent être traités comme tels (voir le paragraphe sur les déchets).

4.3.2. Les bonnes pratiques de laboratoire (BPL)

Il est indispensable d'intégrer la prévention dans le 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 les méthodes de désinfection validées et des filières réglementaires d'élimination des déchets.

Le détail des BPL figure au cas par cas, en fonction des niveaux de risques, sur les [fiches 6, 7, 8, 9, 10 et 11](#).

4.3.3. Pré-désinfection/Nettoyage/ Désinfection/Antiseptie/Stérilisation

Pré-désinfection

Opération au résultat momentané permettant d'éliminer, de tuer ou d'inhiber les micro-organismes indésirables, en fonction des objectifs fixés.

La pré-désinfection est le premier traitement à effectuer sur le matériel et les objets souillés dans le but de diminuer la population de micro-organismes et de faciliter le nettoyage ultérieur.

Le terme « décontamination » est improprement utilisé et doit être réservé à des opérations visant à diminuer un risque de contamination radioactive ou chimique.

Nettoyage

Élimination des salissures et des souillures dans le but de présenter un état de propreté des surfaces ou des objets, contrôlable à l'œil nu. Le nettoyage peut être mécanique et chimique.

Désinfection

Opération au résultat momentané permettant d'éliminer ou de tuer les micro-organismes et/ou d'inactiver les virus indésirables portés par des milieux inertes contaminés (sols, surfaces, instruments, air, eau...), en fonction des objectifs fixés. Le résultat de cette opération est limité aux micro-organismes et/ou virus présents au moment de l'opération. Elle nécessite un nettoyage préalable.

Le désinfectant peut être actif sur une ou plusieurs catégories de micro-organismes : bactéries (bactéricide), virus (virucide) et champignons (fongicide).

À chaque type de matériel ou substrat (verrerie réutilisable, paillasse, 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'activité antimicrobienne 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 nettoyeurs ou adjuvants particuliers.

La [fiche 15](#) présente les différents moyens de désinfection.

Antiseptie

Opération au résultat momentané permettant au niveau des tissus vivants, dans la limite de leur tolérance, d'éliminer ou de tuer les micro-organismes et/ou d'inactiver les virus, en fonction des objectifs fixés.

Stérilisation

Mise en œuvre d'un ensemble de méthodes et de moyens visant à éliminer tous les micro-organismes vivants de quelque nature que ce soit, portés par un objet parfaitement nettoyé (10⁻⁶ = probabilité qu'il reste un micro-organisme viable). Elle s'applique à des objets dont le conditionnement est tel qu'il maintient l'état stérile.

Le tableau 10 résume les différentes étapes nécessaires à la chaîne de stérilisation.

4.3.4. Les déchets

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.

D'après le Code de la santé publique, les déchets biologiques issus des activités de recherche sont assimilés aux déchets d'activités de soins. Ils sont dits « Déchets d'activités de soins à risques infectieux et assimilés » (DASRI) s'ils :

- présentent un risque infectieux, du fait qu'ils contiennent des micro-organismes viables ou leurs toxines, dont on sait ou dont on a de bonnes raisons de croire qu'en raison de leur nature, de leur quantité ou de leur métabolisme, ils causent la maladie chez l'homme ou chez d'autres organismes vivants ;
- relèvent de l'une des catégories suivantes même en l'absence de risque infectieux :
 - > matériels et matériaux piquants ou coupants destinés à l'abandon, qu'ils aient été ou non en contact avec un produit biologique ;
 - > produits sanguins ;



- > déchets anatomiques humains, correspondant à des fragments humains non aisément identifiables.

Les traitements et filières d'élimination sont différents selon la nature des déchets.




Le temps autorisé de stockage entre leur production et leur élimination prend en compte la quantité de déchets produits. La durée entre la production effective de DASRI et leur incinération ou leur prétraitement par désinfection est de :

- 72 heures : quantité > 100 kg/semaine
- 7 jours : 15 kg/mois < quantité ≤ 100 kg/semaine
- 1 mois : 5 kg/mois < quantité ≤ 15 kg/mois
- 3 mois : quantité ≤ 5 kg/mois et/ou s'il s'agit de DASRI perforants.

Tableau 10 Les différentes étapes nécessaires à la chaîne de stérilisation

ÉTAPES	OBJECTIFS	EXEMPLES DE MODALITÉS D'EXÉCUTION
Pré-désinfection	Protection du personnel Facilité du nettoyage Protection de l'environnement de travail	Utilisation d'un détergent, de préférence bactéricide (par trempage par exemple)
Nettoyage	Élimination des salissures et des souillures	Machine à laver, ultrasons...
Désinfection	Élimination momentanée des micro-organismes présents en les tuant ou en les inactivant	Utilisation de bactéricides, virucides, fongicides tels que l'eau de javel, l'alcool à 70°...
Stérilisation	Obtenir un état stérile qui puisse être conservé	Autoclavage à 121° C pendant 20 minutes



Après les avoir préalablement conditionnés, les pièces anatomiques (humaines ou animales) et les déchets issus des animaux (cadavres ou matières animales) sont entreposés à des températures comprises entre 0 et 5 °C pendant 8 jours, ou congelés et éliminés rapidement.

Les lieux de stockage des déchets d'origines animale et humaine doivent être distincts.

Les déchets issus d'animaux non infectés sont collectés par un organisme agréé d'équarrissage puis éliminés par incinération. Pour ceux issus de cadavres d'animaux infectés ou OGM, l'élimination suit la voie d'élimination des déchets à risques infectieux.

En pratique, les cadavres d'animaux/pièces anatomiques sont décontaminés (autoclavage par exemple) puis éliminés immédiatement en DASRI sans congélation.

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

Le stockage, le traitement et l'élimination des cadavres d'animaux contaminés par des produits radioactifs se font dans le respect de la réglementation en vigueur pour les déchets radioactifs.

Les procédures de gestion des déchets devront faire l'objet de protocoles écrits. Pour plus de précisions voir la [fiche 16](#).

5. LE TRANSPORT

Le risque lié au transport d'un produit biologique est celui d'une rupture du confinement d'un colis contenant un agent pathogène, qui peut survenir suite à :

- un accident de circulation ;
- une rupture du colis due à une chute ;
- son ouverture accidentelle ou toute manipulation non conforme ;
- la méconnaissance des règles qui s'imposent à la réception ou à l'expédition d'un produit présentant des risques pour la santé des travailleurs.

De tels événements exposent les manipulateurs du colis mais sont également susceptibles d'avoir un impact sur la santé publique.

Pour prévenir ces risques potentiels et transporter un tel produit sur la voie publique*, des règles ont été édictées. Dérivées d'un ensemble de prescriptions de l'ONU, elles se déclinent en plusieurs réglementations correspondant aux différents modes de transport :

- IATA pour le transport aérien
- IMDG pour le transport maritime
- RID pour le transport en chemin de fer
- ADNR pour les voies navigables
- ADR pour le transport routier

LES INTERDICTIONS

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

**Par voie publique, il faut entendre toute voie ouverte à la circulation, extérieure au périmètre strictement défini comme appartenant à l'entreprise.*

5.1. Les Obligations

5.1.1. Les obligations et responsabilités de l'expéditeur

L'expéditeur (le directeur d'unité) est entièrement responsable du respect des prescriptions réglementaires afférentes au colis qu'il remet au transporteur, du remplissage du document de transport adéquat, du respect des règles d'emballages, d'étiquetage...

Dans toute unité effectuant des envois – ou des réceptions – de produits dangereux, le directeur d'unité doit obligatoirement avoir recours à un « Conseiller sécurité » : son rôle est de conseiller et d'informer l'expéditeur, de prescrire les règles de transport adaptées et de s'assurer que ces prescriptions sont respectées.

De plus, les personnels ayant à effectuer des expéditions ou recevoir des produits et marchandises dangereuses doivent obligatoirement bénéficier d'une formation.

5.1.2. Les obligations de désignation des produits

Tout produit remis à un transporteur doit être désigné par l'expéditeur, selon une nomenclature

ONU, composée du préfixe UN + 4 chiffres. Ce numéro, dit N° UN, permet de définir les obligations préalables à toute expédition.

5.1.3. Les obligations de classification des dangers

Tout produit dangereux doit être classifié selon l'une des 13 classes possibles. Les produits biologiques dangereux appartiennent :

- soit à la classe 6.2 : elle couvre les matières infectieuses, c'est-à-dire les matières dont on sait ou dont on a des raisons de penser qu'elles contiennent des agents pathogènes,
- soit à la classe 9 : il s'agit de produits dangereux pour l'environnement.

De plus, ces produits sont affectés d'un code A ou B suivant leur impact sur la santé humaine ou animale :

- **Catégorie A** : matières dont on sait ou dont on a des raisons de penser qu'elles contiennent des agents pathogènes, transportées sous une forme qui peut, en cas d'exposition à celles-ci, provoquer une invalidité permanente, constituer une menace ou provoquer la mort chez l'homme ou l'animal alors qu'il était par ailleurs en bonne santé.
- **Catégorie B** : matière infectieuse qui ne répond pas aux critères de classification dans la catégorie A.

Donc, avant de transporter un produit biologique, **deux questions doivent être posées** :

1) Le produit à transporter est-il classé dangereux ?

Il l'est dès lors qu'un numéro UN peut lui être attribué. Les produits biologiques sont répertoriés sous les N°UN suivants :

2814 : Matière infectieuse pour l'homme *liquide ou solide+ – Catégorie A

2900 : Matière infectieuse pour les animaux [solide ou liquide] – Catégorie A

3245 : Micro-organismes ou organismes génétiquement modifiés

3291 : Déchet d'hôpital, non spécifié OU déchet biomédical OU déchet médical réglementé – Catégorie B

3373 : Matière biologique – Catégorie B

Cas particulier des OGM

Un micro-organisme génétiquement modifié 3245 sera également classé comme produit dangereux, classe 9.

Par contre, les organismes et micro-organismes génétiquement modifiés seront classés 2814, 2900, 3291 ou 3373 s'ils répondent à la classification des matières infectieuses (et non plus en 3245).

2) Le produit est-il contenu dans un (ou accompagné de) produit chimique (notamment de produits cryogéniques) ?

Dans le cas du transport de produits biologiques, il s'agit le plus souvent de carboglace, d'azote liquide, d'hélium liquide, de gaz sous pression... Dans ces cas s'ajoute la réglementation spécifique au transport de ces produits chimiques.

Pour le produit chimique considéré, le N° UN se retrouve sur la fiche de données de sécurité (FDS), à la rubrique 14. Cette rubrique explicite les règles devant être respectées en matière de transport et indique toutes les précautions spéciales qu'un utilisateur doit connaître ou prendre pour le transport à l'intérieur ou à l'extérieur de ses installations :

- Numéro ONU
- Classe de danger
- Nom d'expédition
- Groupe d'emballage
- Polluant marin
- Autres informations utiles

5.2. Les Colis

5.2.1. Les emballages

Les réglementations ADR et IATA comportent une « Instruction d'emballage » qui définit un certain nombre de critères visant à garantir l'intégrité des emballages en cas de chute, de perforation et de compression.

Les produits biologiques classés 2814, 2900 et 3373 doivent être transportés dans des triples emballages répondant aux exigences de la classe 6.2 de l'ONU. Les emballages primaires et secondaires

doivent être étanches et séparés par une quantité suffisante de matériau de calage absorbant.

L'emballage extérieur doit porter le marquage spécifique de l'ONU, indiquant que l'emballage a passé de façon satisfaisante les épreuves requises. Ce type d'emballage est disponible dans le commerce.

5.2.2. Le marquage

Il comporte des informations sur le contenu du colis, la nature du (ou des) risque(s), et les normes d'emballage utilisées. Tous les marquages sur les

emballages doivent être apposés de manière à être clairement visibles et ne pas être recouverts par une autre étiquette. Chaque emballage doit comporter les informations suivantes :

- le nom et l'adresse de l'expéditeur,
- le numéro de téléphone d'une personne responsable de l'expédition,
- le nom et l'adresse du destinataire (ou du consignataire),
- le numéro de l'ONU ou UN suivi de la désignation officielle de transport (par exemple, UN 2814 « MATIÈRES INFECTIEUSES POUR L'HOMME »). Les noms scientifiques ne doivent pas être indiqués sur l'emballage.

Des informations facultatives pourront apparaître (température de stockage) ainsi que des indications complémentaires en cas d'utilisation d'un produit chimique cryogénique.

5.2.3. L'étiquetage

Une ou plusieurs étiquettes spécifiques de danger sont apposées à l'extérieur de chaque colis pour toutes les marchandises dangereuses à expédier.

Il existe deux types d'étiquettes :

- des étiquettes de risque sont exigées pour les marchandises dangereuses sous forme d'un carré placé à un angle de 45° (en losange),
 - Nom de l'étiquette : Matière infectieuse
 - Dimensions minimales : 100 x 100 mm (ou 50 x 50 mm pour les petits colis)
 - 1 seule étiquette par colis
 - Couleur : Noir et blanc

Remarque

Ce qui est hors Classification UN

Aucune de ces dispositions de transport ne s'applique aux articles suivants :

- Le transport d'animaux vivants, ou leurs parties.

ATTENTION

► Un animal porteur d'un agent pathogène 2814 ou 2900 est automatiquement classé dans la rubrique correspondante, et les réglementations ADR ou IATA s'appliquent.

- Les déchets médicaux ou déchets d'hôpital décontaminés par une méthode agréée.
- Les taches de sang séché recueilli en plaçant une goutte de sang sur un matériau absorbant ou lors de tests de dépistage sur sang occulte dans les selles.

- Les matières qui ne contiennent pas de matières infectieuses ou qui ne sont pas susceptibles de provoquer une maladie chez l'homme ou l'animal.
- Le sang et les composants sanguins, ainsi que les tissus ou organes recueillis et destinés à la transfusion et transplantation.
- Les échantillons d'environnement (y compris les échantillons de nourriture et d'eau) dont on estime qu'ils ne présentent pas un risque significatif d'infection.
- Les matières qui se présentent sous une forme dans laquelle tout agent pathogène éventuel a été neutralisé ou rendu inactif de manière qu'il ne présente plus de risque pour la santé.
- Les matières contenant des micro-organismes qui ne sont pas pathogènes pour l'homme ou l'animal.

- Les mots « MATIÈRES INFECTIEUSES » seront visibles.
- La déclaration « En cas de dommage ou de fuite avertir immédiatement les autorités de santé publique » peut être exigée.
- des étiquettes de manutention.

5.3. Import-Export d'échantillons biologiques humains ou de cellules souches embryonnaire

5.3.1. Import-Export d'échantillons biologiques humains

Toute importation ou exportation d'éléments du corps humain à des fins scientifiques doit faire l'objet, au préalable, d'une autorisation délivrée par le MENESR.

Les demandes sont à effectuer par le responsable de la recherche et doivent être signées par le chef d'établissement (au CNRS, le délégué régional).

Le dossier est téléchargeable sur le site du Ministère :

<http://www.enseignementsup-recherche.gouv.fr/cid20560/importation-ou-exportation-d-elements-du-corps-humain.html>

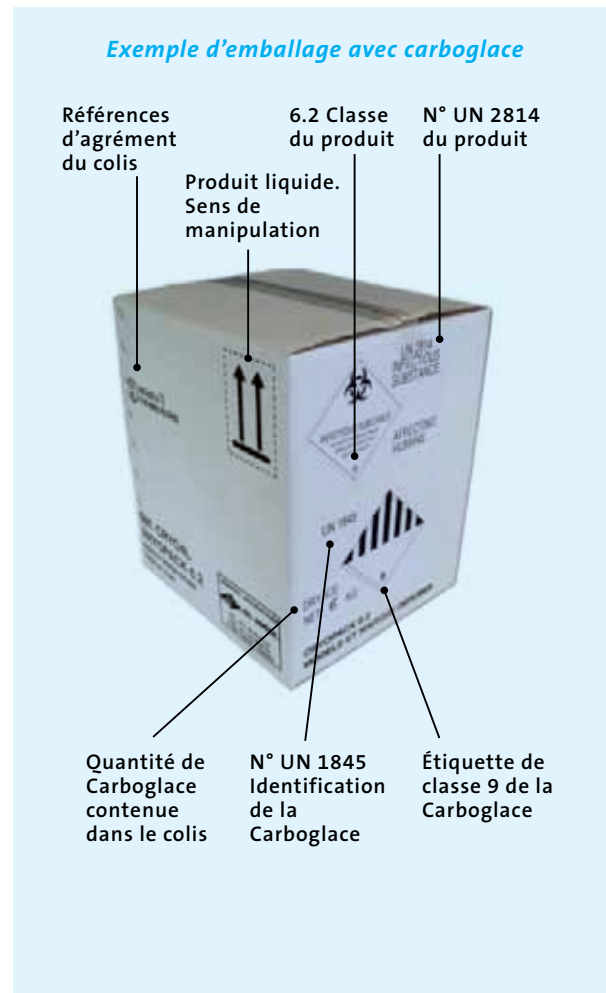
5.3.2. Import- Export pour les cellules souches embryonnaires humaines

L'import-export des cellules dérivées de cellules embryonnaires humaines à des fins de recherche est également soumis à autorisation. Cette autorisation est délivrée pour chaque opération

envisagée et est valable 2 ans.

Les demandes sont à effectuer par le responsable de la recherche et doivent être signées par le chef d'établissement (au CNRS, le délégué régional).

Les démarches nécessaires et les dossiers sont téléchargeables sur le site de l'agence de biomédecine : <http://www.agence-biomedecine.fr/Recherches-et-etudes-sur-l-embryon>



RECOMMANDATION/ CONSEIL

- ULISSE - Unité de Logistique Internationale/ Service et Soutien aux Expérimentations - est une unité propre de service du CNRS, spécialisée dans le domaine de la logistique et du transport, habilitée par le ministère chargé des Transports.
- La problématique du transport des matières dangereuses étant très complexe, il est vivement conseillé de contacter ULISSE qui sera en mesure de traiter tout envoi de colis contenant des matières dangereuses [fourniture du colis, de la documentation, signature du document de transport, réalisation de l'expédition, de la prestation douanière, de l'avance des frais liés au paiement du transport et, le cas échéant, des droits de douane...].
- ULISSE propose également la formation des personnels ayant à effectuer des expéditions ou recevoir des produits.
- ULISSE dispose de conseillers TMD pour apporter des réponses techniques aux questions que se posent les laboratoires.

LES SITES UTILES

Site de l'ADR : <http://www.unece.org/fr/trans/danger/publi/adr/adr2013/13contentsf.html>

ULISSE : <http://ulisse.cnrs.fr/>

Annexe 1. La réglementation/les normes

Prévention des risques et protection des personnes

Arrêté du 1^{er} août 2007 fixant les modalités de suivi sérologique des personnes victimes d'accidents du travail entraînant un risque de contamination par le virus de l'immunodéficience humaine.

Arrêté du 16 juillet 2007 fixant les mesures techniques de prévention, notamment de confinement, à mettre en œuvre dans les laboratoires de recherche, d'enseignement, d'analyses, d'anatomie et cytologie pathologiques, les salles d'autopsie et les établissements industriels et agricoles où les travailleurs sont susceptibles d'être exposés à des agents biologiques pathogènes.

Circulaire DGS/SD5C/DHOS/E2/DRT/CT1/CT2 n° 2004-382 du 30 juillet 2004 relative aux précautions à observer dans les services d'anatomie et cytologie pathologiques, les salles d'autopsie, les chambres mortuaires et les laboratoires de biologie « spécialisés ATNC », vis-à-vis du risque de transmission des agents transmissibles conventionnels (ATC) et non conventionnels (ATNC).

Circulaire DGS/5C/DHOS/E2 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.

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.

Arrêté du 30 juin 1998 modifiant l'arrêté du 18 juillet 1994 modifié fixant la liste des agents biologiques pathogènes.

Arrêté du 17 avril 1997 modifiant l'arrêté du 18 juillet 1994 fixant la liste des agents biologiques pathogènes.

Décret n° 96-364 du 30 avril 1996 relatif à la protection des travailleuses enceintes ou allaitant contre les risques résultant de leur exposition à des agents chimiques, biologiques et physiques et modifiant notamment le code du travail.

Circulaire DGS/DH n° 100 du 11 décembre 1995 concernant les précautions à observer en milieu chirurgical et anatomopathologique face aux risques de transmission de la maladie de Creutzfeldt-Jakob.

Arrêté du 18 juillet 1994 fixant la liste des agents biologiques pathogènes.

Décret n° 94-352 du 4 mai 1994 relatif à la protection des travailleurs contre les risques résultant de leur exposition à des agents biologiques et modifiant le code du travail.

Directive 90/679/CEE du Conseil, du 26 novembre 1990, concernant la protection des travailleurs contre les risques liés à l'exposition à des agents biologiques au travail.

Norme NF EN 12128 - Laboratoires de recherche, de développement et d'analyse - Niveaux de confinement des laboratoires de microbiologie, zones à risque, situations et exigences physiques de sécurité (juin 1998).

Annexe 1. La réglementation/les normes (suite)

Organismes génétiquement modifiés

Arrêté du 5 mars 2013 portant création d'un traitement automatisé de données à caractère personnel relatif à la dématérialisation des procédures d'agrément ou de déclaration des projets d'utilisation d'organismes génétiquement modifiés en milieu confiné à des fins d'enseignement, de recherche et de développement prévues par les dispositions du chapitre II du titre III du livre V de la partie réglementaire du code de l'environnement.

Arrêté du 28 mars 2012 relatif au dossier technique demandé pour les utilisations confinées d'organismes génétiquement modifiés prévu aux articles R. 532-6, R. 532-14 et R. 532-26 du code de l'environnement.

Décret n° 2011-1177 du 23 septembre 2011 relatif à l'utilisation confinée d'organismes génétiquement modifiés.

Directive 2009/41/ce du parlement européen et du conseil du 6 mai 2009 relative à l'utilisation confinée de micro-organismes génétiquement modifiés.

Décret n° 2007-357 du 19 mars 2007 modifiant le décret n° 93-774 du 27 mars 1993 fixant la liste des techniques de modification génétique et les critères de classement des organismes génétiquement modifiés.

Décret n° 98-18 du 8 janvier 1998 modifiant le décret n° 93-774 du 27 mars 1993 fixant la liste des techniques de modification génétique et les critères de classement des organismes génétiquement modifiés.

Circulaire du 16 avril 1996 relative aux utilisations confinées d'organismes génétiquement modifiés à des fins de recherche, de développement ou d'enseignement.

Décret n° 93-774 du 27 mars 1993 fixant la liste des techniques de modification génétique et les critères de classement des organismes génétiquement modifiés (OGM).

Micro-organismes et toxines

Arrêté du 11 juin 2013 modifiant l'arrêté du 23 janvier 2013 relatif aux règles de bonnes pratiques tendant à garantir la sécurité et la sûreté biologiques mentionnées à l'article R. 5139-18 du code de la santé publique.

Arrêté du 23 janvier 2013 relatif aux règles de bonnes pratiques tendant à garantir la sécurité et la sûreté biologiques mentionnées à l'article R. 5139-18 du code de la santé publique.

Arrêté du 30 avril 2012 fixant la liste des micro-organismes et toxines prévue à l'article L. 5139-1 du code de la santé publique

Arrêté du 17 mars 2011 relatif aux compétences et qualifications dont le titulaire de l'autorisation mentionnée à l'article R. 5139-1 du code de la santé publique justifie pour lui-même ainsi que pour les personnes qu'il habilite pour contribuer sous sa responsabilité aux opérations faisant l'objet de cette autorisation.

Décision du 20 octobre 2010 fixant le contenu du dossier technique mentionné à l'article R. 5139-3 et accompagnant la demande d'autorisation prévue à l'article R. 5139-1 du code de la santé publique.

Arrêté du 30 juin 2010 fixant les renseignements qui figurent dans le registre ou les enregistrements mentionnés à l'article R. 5139-17 du code de la santé publique, notamment les modalités de leur tenue et les informations qu'ils contiennent.

Arrêté du 30 juin 2010 fixant les renseignements qui figurent sur l'autorisation mentionnée à l'article R. 5139-1 du code de la santé publique.

Arrêté du 30 juin 2010 fixant les mentions qui figurent sur les états annuels des stocks prévus à l'article R. 5139-14 du code de la santé publique.

Décret n° 2010-736 du 30 juin 2010 relatif aux micro-organismes et toxines.

Annexe 1. La réglementation/les normes (suite)

Éthique

Lois de bioéthique de 1994 (modification successive par la loi du 7 juillet 2011, et celle du 6 août 2013).

Loi du 20 décembre 1988 modifiée (Loi Huriet- Sérusclat, dernière modification par la loi « Jardé » ou loi n° 2012-300 du 5 mars 2012 relative aux recherches impliquant la personne humaine) : loi relative aux recherches biomédicales.

Loi 78-17 du 6 janvier 1978 modifiée : loi relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés.

• Recherches biomédicales

Décret n° 2012-597 du 27 avril 2012 relatif à l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé.

Loi n° 2011-2012 du 29 décembre 2011 relative au renforcement de la sécurité sanitaire du médicament et des produits de santé.

• Éléments du corps humain - Échantillons biologiques

Article R. 1243-49 et suivants du code de la santé publique.

Arrêté du 5 juillet 2013 modifiant l'arrêté du 23 décembre 2010 pris en application des articles R. 1211-14, R. 1211-15, R. 1211-16, R. 1211-21 et R. 1211-22 du code de la santé publique et l'arrêté du 19 septembre 2011 relatif aux conditions d'utilisation d'organes ou de cellules provenant de donneurs porteurs de marqueurs du virus de l'hépatite B.

Arrêté 23 décembre 2010 pris en application des articles R. 1211-14, R. 1211-15, R. 1211-16, R. 1211-21 et R. 1211-22 du code de la santé publique.

Décret n° 2007-1220 du 10 août 2007 relatif au prélèvement, à la conservation et à la préparation à des fins scientifiques d'éléments du corps humain et modifiant le code de la santé publique (dispositions réglementaires).

• Import-export d'échantillons biologiques

Articles R.1235-7 et R.1235-8 du code de la santé publique.

Décret n° 2008-891 du 2 septembre 2008 relatif à l'importation et à l'exportation des produits du corps humain.

Arrêté 20 avril 2000 fixant le modèle de dossier de demande d'autorisation d'activité d'importation et d'exportation a des fins scientifiques d'organes, de tissus et de leurs dérivés, et de cellules du corps humain.

Décret n° 2000-156 du 23 février 2000 relatif à l'importation et à l'exportation d'organes, de tissus et de leurs dérivés, et de cellules du corps humain, à l'exception des gamètes et des produits de thérapie génique et cellulaire.

• Recherche sur l'embryon et les cellules souches embryonnaires humaines

Décret n° 2012-467 du 11 avril 2012 relatif aux recherches sur l'embryon et les cellules embryonnaires.

Décret n° 2004-1024 du 28 septembre 2004 relatif à l'importation à des fins de recherche de cellules souches embryonnaires, aux protocoles d'études et de recherche et à la conservation de ces cellules et portant application des dispositions de l'article 37 de la loi n° 2004-800 du 6 août 2004 relative à la bioéthique.

Annexe 1. La réglementation/les normes (suite)

Utilisation des animaux à des fins scientifiques

Décret n° 2013-118 du 1^{er} février 2013 relatif à la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques.

Arrêté du 1^{er} février 2013 fixant les conditions de fourniture de certaines espèces animales utilisées à des fins scientifiques aux établissements utilisateurs agréés.

Arrêté du 1^{er} février 2013 relatif à l'acquisition et à la validation des compétences des personnels des établissements utilisateurs, éleveurs et fournisseurs d'animaux utilisés à des fins scientifiques.

Arrêté du 1^{er} février 2013 fixant les conditions d'agrément, d'aménagement et de fonctionnement des établissements utilisateurs, éleveurs ou fournisseurs d'animaux utilisés à des fins scientifiques et leurs contrôles.

Arrêté du 1^{er} février 2013 relatif à l'évaluation éthique et à l'autorisation des projets impliquant l'utilisation d'animaux dans des procédures expérimentales.

Ordonnance n° 2012-10 du 5 janvier 2012 relative à la protection des animaux d'espèces non domestiques non tenus en captivité utilisés à des fins scientifiques.

Arrêté du 8 décembre 2011 établissant des règles sanitaires applicables aux sous-produits animaux et produits dérivés en application du règlement (CE) n° 1069/2009 et du règlement (UE) n° 142/2011.

Directive 2010/63/UE du 22 septembre 2010 relative à la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques.

Charte nationale portant sur l'éthique de l'expérimentation animale.

Déchets

Arrêté du 20 mai 2014 modifiant l'arrêté du 7 septembre 1999 relatif au contrôle des filières d'élimination des déchets d'activités de soins à risques infectieux et assimilés et des pièces anatomiques et l'arrêté du 7 septembre 1999 relatif aux modalités d'entreposage des déchets d'activités de soins à risques infectieux et assimilés et des pièces anatomiques.

Arrêté du 29 février 2012 fixant le contenu des registres mentionnés aux articles R. 541-43 et R. 541-46 du code de l'environnement.

Arrêté du 14 octobre 2011 modifiant les arrêtés du 7 septembre 1999 relatifs aux modalités d'entreposage et au contrôle des filières d'élimination des déchets d'activités de soins à risques infectieux et assimilés et des pièces anatomiques.

Arrêté du 24 novembre 2003 relatif aux emballages des déchets d'activités de soins à risques infectieux et assimilés et des pièces anatomiques d'origine humaine.

Arrêté du 4 novembre 2002 fixant les procédures de décontamination et de désinfection à mettre en œuvre pour la protection des travailleurs dans les lieux où ils sont susceptibles d'être en contact avec des agents biologiques pathogènes pouvant être présents chez des animaux vivants ou morts, notamment lors de l'élimination des déchets contaminés, ainsi que les mesures d'isolement applicables dans les locaux où se trouvent des animaux susceptibles d'être contaminés par des agents biologiques des groupes 3 ou 4.

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

Arrêté du 7 septembre 1999 relatif au contrôle des filières d'élimination des déchets d'activités de soins à risques infectieux et assimilés et des pièces anatomiques.

Annexe 1. La réglementation/les normes (suite)

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.

Décret n° 90-872 du 27 septembre 1990 portant application de la loi n° 88-1138 du 20 décembre 1988 modifiée relative à la protection des personnes qui se prêtent à des recherches biomédicales et modifiant le code de la santé publique.

Loi n° 90-86 du 23 janvier 1990 portant diverses dispositions relatives à la sécurité sociale et à la santé.

Loi n° 88-1138 du 20 décembre 1988 relative à la protection des personnes qui se prêtent à des recherches biomédicales.

Recommandation du HCB sur le traitement des déchets issus d'OGM.

Norme NF X 30-500 - Emballages des déchets d'activités de soins - Boîtes et mini-collecteurs pour déchets perforants - Spécifications et essais (décembre 2011).

Norme NF X 30-501 - Emballages des déchets d'activités de soins - Sacs pour déchets d'activités de soins mous à risques infectieux - Spécifications et méthodes d'essai (décembre 2006).

Norme NF X 30-505 - Emballage des déchets d'activités de soins - Déchets d'activités de soins - Fûts et jerricanes en matière plastique pour déchets d'activités de soins à risques infectieux (décembre 2004).

Norme NF X30-506 - Déchets d'activités de soins - Emballages pour déchets d'activités de soins liquides à risques infectieux - Spécifications et essais (septembre 2007).

Normes relatives aux appareillages et équipements

Norme NF EN 12469 : 2000 - Critères de performance pour les postes de sécurité microbiologique (remplace la norme NF X 44-201).

Norme NF EN 12347 : 1998 - Équipement - Critères de performance pour les stérilisateur à la vapeur d'eau et les autoclaves.

Norme NF EN 14126 : 2003 - Vêtements de protection - Exigences de performances et méthodes d'essai pour les vêtements de protection contre les agents infectieux.

Norme NF EN 420 : 2003 - Gants de protection. Exigences générales et méthodes d'essai.

Norme NF EN 388 : 2003 - Gants de protection contre les risques mécaniques.

Norme NF EN 374-1 : 2003 - Gants de protection contre les risques chimiques et biologiques (généralités).

Norme NF EN 374-2 : 2003 - Gants de protection - détermination de la résistance à la pénétration - Risques Biologiques.

Norme NF EN 374-3 : 2003 - Gants de protection - détermination de la résistance à la perméation - Risques Chimiques.

Norme NF EN 166 : 2002 - Protection individuelle de l'œil.

Norme NF EN 170 : 2003 - Protection individuelle de l'œil - Filtres pour l'ultraviolet - Exigences relatives au facteur de transmission et utilisation recommandée.

Norme NF EN 149 : 2001 - Appareils de protection respiratoire - Demi-masques filtrants contre les particules - Exigences, essais, marquage.

Norme NF EN 143 : 2006 - Appareils de protection respiratoire - Filtres à particules - Exigences, essais, marquage.

Annexe 2. Classement des micro-organismes pathogènes

Lexiques des sigles et des symboles

A – 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.
- 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.

B – Lexique propre aux virus

- (a)** Encéphalite à tiques.
- (b)** La vaccination contre le virus de l'hépatite B protégera les travailleurs contre le virus de l'hépatite D (delta) dès lors qu'ils ne sont pas affectés par le virus de l'hépatite B.
- (c)** Uniquement en ce qui concerne les types A et B.
- (d)** Deux virus peuvent être identifiés sous cette rubrique, celui de la variole du buffle et une variante du virus de la vaccine.
- (e)** Variante de la variole bovine.
- (f)** Variante de la vaccine.
- (g)** 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.
- (h)** « Il n'y a pas de preuve concernant l'existence chez l'homme d'infections dues aux agents responsables d'autres EST animales. Néanmoins, les mesures de confinement des agents classés dans le groupe de risque 3 (*) sont recommandées par précaution pour les travaux en laboratoire, à l'exception des travaux en laboratoire portant sur un agent identifié de tremblante du mouton, pour lequel le niveau de confinement 2 est suffisant ».

Annexe 2. Classement des micro-organismes pathogènes (suite)

Tableau A : les bactéries

AGENT BIOLOGIQUE	Groupe	Note
<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>	2	
<i>Actinomadura madurae</i>	2	
<i>Actinomadura pelletieri</i>	2	
<i>Actinomyces gerencseriae</i>	2	
<i>Actinomyces israelii</i>	2	
<i>Actinomyces pyogenes</i>	2	
<i>Actinomyces spp.</i>	2	
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i> (<i>Corynebacterium haemolyticum</i>)	2	
<i>Bacillus anthracis</i>	3	
<i>Bacteroides fragilis</i>	2	
<i>Bartonella bacilliformis</i>	2	
<i>Bartonella (Rochalimaea) spp.</i>	2	
<i>Bartonella quintana</i> (<i>Rochalimaea quintana</i>)	2	
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	2	
<i>Bordetella parapertussis</i>	2	
<i>Bordetella pertussis</i>	2	V
<i>Borrelia burgdorferi</i>	2	
<i>Borrelia duttonii</i>	2	
<i>Borrelia recurrentis</i>	2	
<i>Borrelia spp.</i>	2	
<i>Brucella abortus</i>	3	
<i>Brucella canis</i>	3	
<i>Brucella melitensis 1</i>	3	
<i>Brucella suis</i>	3	
<i>Burkholderia mallei</i> (<i>Pseudomonas mallei</i>)	3	

<i>Burkholderia pseudomallei</i> (<i>Pseudomonas mallei</i>)	3	
<i>Compylobacter fetus</i>	2	
<i>Campylobacter jejuni</i>	2	
<i>Campylobacter spp.</i>	2	
<i>Cardiobacterium hominis</i>	2	
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	2	
<i>Chlamydia trachomatis</i>	2	
<i>Chlamydia psittaci</i> (souches aviaires)	3	
<i>Chlamydia psittaci</i> (souches non aviaires)	2	
<i>Clostridium botulinum</i>	2	T
<i>Clostridium perfringens</i>	2	
<i>Clostridium tetani</i>	2	T, V
<i>Clostridium spp.</i>	2	
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	2	T, V
<i>Corynebacterium minutissimum</i>	2	
<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>	2	
<i>Corynebacterium spp.</i>	2	
<i>Coxiella burnetii</i>	3	
<i>Edwardsiella tarda</i>	2	
<i>Ehrlichia sennetsui</i> (<i>Rickettsia sennetsui</i>)	2	
<i>Ehrlichia spp.</i>	2	
<i>Eikenella corrodens</i>	2	
<i>Enterobacter aerogenes cloacae</i>	2	
<i>Enterobacter spp.</i>	2	
<i>Enterococcus spp.</i>	2	

<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	2	
<i>Escherichia coli</i> (à l'exception des souches non pathogènes)	2	
<i>Escherichia coli</i> , souches cytotoxiques (par exemple : 0157 : H7 ou 0103)	3	T (*)
<i>Flavobacterium meningosepticum</i>	2	
<i>Fluoribacter bozemanae</i> (<i>Legionella</i>)	2	
<i>Francisella tularensis</i> (type A)	3	
<i>Francisella tularensis</i> (type B)	2	
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	2	
<i>Gardnerella vaginalis</i>	2	
<i>Haemophilus ducreyi</i>	2	
<i>Haemophilus influenzae</i>	2	V
<i>Haemophilus spp.</i>	2	
<i>Helicobacter pylori</i>	2	
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	
<i>Klebsiella spp.</i>	2	
<i>Legionella pneumophila</i>	2	
<i>Legionella spp.</i>	2	
<i>Leptospira interrogans</i> (autres sérotypes)	2	
<i>Leptospira interrogans icterohemorrhagiae</i>	2	V
<i>Listeria monocytogenes</i>	2	
<i>Listeria ivanovii</i>	2	
<i>Morganella morganii</i>	2	
<i>Mycobacterium africanum</i>	3	V

Annexe 2. Classement des micro-organismes pathogènes (suite)

AGENT BIOLOGIQUE	Groupe	Note
<i>Mycobacterium avium/intracellulare</i>	2	
<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 malmoense</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 otitidiscaviarum</i>	2	

<i>Pasteurella multocida</i>	2	
<i>Pasteurella spp.</i>	2	
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	2	
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	2	
<i>Porphyromonas spp.</i>	2	
<i>Prevotella spp.</i>	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 spp.</i>	2	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	
<i>Rhodococcus equi</i>	2	
<i>Rickettsia akari</i>	3	(*)
<i>Rickettsia canada</i>	3	(*)
<i>Rickettsia conorii</i>	3	
<i>Rickettsia montana</i>	3	(*)
<i>Rickettsia typhi (Rickettsia mooseri)</i>	3	
<i>Rickettsia prowazekii</i>	3	
<i>Rickettsia rickettsii</i>	3	
<i>Rickettsia tsutsugamushi</i>	3	
<i>Rickettsia spp.</i>	2	
<i>Salmonella arizonae</i>	2	
<i>Salmonella enteritidis</i>	2	
<i>Salmonella typhimurium</i>	2	
<i>Salmonella paratyphi A, B, C</i>	2	V

<i>Salmonella typhi</i>	3	V (*)
<i>Salmonella</i> (autres variétés sérologiques)	2	
<i>Serpulina spp.</i>	2	
<i>Shigella boydii</i>	2	
<i>Shigella dysenteriae</i> (autre que le type 1)	2	
<i>Shigella dysenteriae (type 1)</i>	3	T (*)
<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 spp.</i>	2	
<i>Streptococcus suis</i>	2	
<i>Treponema carateum</i>	2	
<i>Treponema pallidum</i>	2	
<i>Treponema pertenuae</i>	2	
<i>Treponema spp.</i>	2	
<i>Vibrio cholerae</i> (y inclus El Tor)	2	
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	2	
<i>Vibrio spp.</i>	2	
<i>Yersinia enterocolitica</i>	2	
<i>Yersinia pestis</i>	3	V
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	2	
<i>Yersinia spp.</i>	2	

Annexe 2. Classement des micro-organismes pathogènes (suite)

Tableau B : les virus

AGENT BIOLOGIQUE	Groupe	Note
Adenoviridae	2	
Arenaviridae complexe de la chorioméningite lymphocytaire-Lassa (arénavirus 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 nouveau monde)		
Virus Guanarito	4	
Virus Junin	4	
Virus Sabia	4	
Virus Machupo	4	
Virus Flexal	3	
Autres complexes Tacaribe	2	
Astroviridae	2	
Bunyaviridae		
Virus Belgrade (également appelé Dobrava)	3	
Virus Bhanja	2	
Virus Bunyamwera	2	
Virus Oropouche	3	
Virus Germiston	2	
Virus de l'encéphalite de Californie	2	
Virus Sin Nombre (anciennement Muerto Canyon)	3	
Hantavirus		
Hantaan (fièvre hémorragique avec syndrome rénal)	3	
Virus Séoul	3	
Virus Puumala	2	
Virus Prospect Hill	2	
Autres Hantavirus	2	
Nairovirus		
Virus de la fièvre hémorragique de Crimée/Congo	4	
Virus Hazara	2	
Phlébovirus		
Fièvre de la vallée du Rift	3	V
Fièvre à phlébotomes	2	
Virus Toscana	2	
Autres Bunyavirus connus comme pathogènes	2	
Caliciviridae		
Norwalk-Virus	2	
Autres Caliciviridae	2	
Virus de l'hépatite E	3	(*)
Coronaviridae	2	
Filoviridae		
Virus Ebola	4	
Virus de Marbourg	4	
Flaviviridae		
Encéphalite d'Australie (encéphalite de la vallée de Murray)	3	
Encéphalite à tiques d'Europe centrale	3	V (*) (a)
Absettarov	3	V (a)
Hanzalova	3	V (a)
Hypr	3	V (a)
Kumlinge	3	V (a)
Virus de la dengue, types 1-4	3	
Virus de l'hépatite C	3	(*)
Encéphalite B japonaise	3	V
Maladie de la forêt de Kyasanur	3	V
Louping ill	3	(*)
Fièvre hémorragique d'Omsk	3	V
Powassan	3	
Rocio	3	
Encéphalite verno-estivale russe	3	V (a)
Encéphalite de Saint-Louis	3	
Wesselsbron	3	(*)
West Nile	3	
Fièvre jaune	3	V
Autres flavivirus connus pour être pathogènes	2	
Virus de l'hépatite G	3	(*)
Hepadnaviridae		
Virus de l'hépatite B	3	V (*)
Virus de l'hépatite D (delta)	3	V (*) (b)
Herpesviridae		
Cytomégalovirus	2	
Herpesvirus hominis 7	2	
Herpesvirus hominis 8	2	
Virus d'Epstein-Barr	2	
Virus du cercopithèque type 1 (virus B du singe)	3	

Annexe 2. Classement des micro-organismes pathogènes (suite)

AGENT BIOLOGIQUE	Groupe	Note
Virus de l'herpès humain, types 1 et 2	2	
Varicellovirus	2	
Virus lymphotrope B humain (HBLV-HHV 6)	2	
Orthomyxoviridae		
Virus grippal (influenza), types A, B et C	2	V (c)
Orthomyxoviridae transmis par les tiques : virus Dhori et Thogoto	2	
Papovaviridae		
Virus BK et JC	2	
Papillomavirus humain	2	
Paramyxoviridae		
Virus de la rougeole	2	V
Virus des oreillons	2	V
Virus de la maladie de Newcastle	2	
Virus parainfluenza, types 1 à 4	2	
Virus respiratoire syncytial	2	
Parvoviridae		
Parvovirus humain (B 19)	2	
Picornaviridae		
Virus de la conjonctivite aiguë hémorragique (AHC)	2	
Virus Coxsackie	2	
Virus Echo	2	
Virus de l'hépatite A (hépatovirus)	2	V
Virus poliomyélitique	2	V
Rhinovirus	2	
Poxviridae		
Virus de la variole du buffle	2	(d)
Virus de la variole bovine	2	

Virus de la variole de l'éléphant	2	(e)
Virus du nodule des trayeurs	2	
Virus du Molluscum contagiosum	2	
Virus de la variole du singe	3	V
Virus Orf	2	
Virus de la variole du lapin	2	(f)
Virus de la vaccine	2	
Virus de la variole (majeure et mineure)	4	V
Virus de la variole blanche	4	V
Virus Tana et Yaba	2	
Reoviridae		
Coltivirus	2	
Rotavirus humains	2	
Orbivirus	2	
Reovirus	2	
Retroviridae		
Virus de l'immuno-déficience humaine	3	(*)
Virus de leucémies humaines à cellules T (HTLV), types 1 et 2	3	(*)
Virus SIV	3	(g)(*)
Rhabdoviridae		
Virus de la rage	3	V (*)
Virus de la stomatite vésiculeuse	2	
Togaviridae		
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 (virus de la rubéole)	2	V
Toroviridae	2	
Virus non classés		
Morbillivirus équin	4	
Virus d'hépatites non encore identifiés	3	(*)
Agents non classiques associés avec les encéphalopathies spongiformes transmissibles (EST)		
Maladie de Creutzfeldt-Jakob	3	(*)
Variante de la maladie de Creutzfeldt-Jakob	3	(*)
Encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) et autres EST animales associées	3	(*)(h)
Syndrome de Gerstman-Sträussler-Scheinker	3	(*)
Kuru	3	(*)

Annexe 2. Classement des micro-organismes pathogènes (suite)

Tableau C : les parasites

AGENT BIOLOGIQUE	Groupe	Note
<i>Acanthamoeba castellani</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 spp.</i>	2	
<i>Clonorchis sinensis</i>	2	
<i>Clonorchis viverrini</i>	2	
<i>Cryptosporidium parvum</i>	2	
<i>Cryptosporidium spp.</i>	2	
<i>Cyclospora cayetanensis</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 (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	
<i>Leishmania peruviana</i>	2	
<i>Leishmania tropica</i>	2	
<i>Leishmania major</i>	2	
<i>Leishmania spp.</i>	2	
<i>Loa loa</i>	2	
<i>Mansonella ozzardi</i>	2	
<i>Mansonella perstans</i>	2	
<i>Naegleria fowleri</i>	3	
<i>Necator americanus</i>	2	
<i>Onchocerca volvulus</i>	2	
<i>Opisthorchis felineus</i>	2	
<i>Opisthorchis spp.</i>	2	
<i>Paragonimus westermani</i>	2	
<i>Plasmodium falciparum</i>	3	(*)
<i>Plasmodium (humain et simien) spp.</i>	2	
<i>Sarcocystis sui 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 spp.</i>	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	Groupe	Note
<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>trichoïdes</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>Microsporium</i> spp.	2	A
<i>Neotestudina rosatii</i>	2	
<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	3	
<i>Penicillium marneffeii</i>	2	A
<i>Scedosporium apiosperrnum</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	

Annexe 3. Liste des micro-organismes hautement pathogènes et toxines (arrêté du 30 avril 2012)

Liste n° 1 (annexe I de l'arrêté)

1° Micro-organismes hautement pathogènes présentant les risques les plus élevés pour la santé publique :

a) Les bactéries :

- Enterobacteriaceae :
 - *Yersina pestis*
- Mycobacteriaceae :
 - *Mycobacterium tuberculosis* ultrarésistante (on entend par ultra-résistante, une bactérie polypharmacorésistante à l'isoniazide, à la rifampicine, à n'importe quelle fluoroquinolone et à la capréomycine ou la kanamycine ou l'amikacine)

b) Les virus :

- Arenaviridae :
 - virus Lassa
 - virus Machupo
 - virus Sabia
- Bunyaviridae :
 - > Hantavirus :
 - virus Andes
 - > Nairovirus :
 - virus de la fièvre hémorragique de Crimée/Congo
- Filoviridae :
 - virus Ebola
 - virus Marburg
- Paramyxoviridae :
 - virus Hendra
 - virus Nipah
- Poxviridae :
 - virus de la variole
 - virus de l'orthopoxvirose simienne
- Coronaviridae :
 - Coronavirus responsable du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS)

2° Micro-organismes génétiquement modifiés issus d'un des micro-organismes hautement pathogènes mentionnés au 1°,

lorsqu'ils présentent un risque pour la santé publique supérieur ou équivalent à celui présenté par la souche parentale dont ils sont issus.

3° Micro-organismes génétiquement modifiés issus d'un des micro-organismes mentionnés au 1° de la liste n° 2,

lorsqu'ils présentent un risque pour la santé publique strictement supérieur à celui présenté par la souche parentale dont ils sont issus.

Liste n° 2 (annexe II de l'arrêté)

1° Micro-organismes et toxines :

a) Les bactéries :

- Bacillaceae :
 - *Bacillus anthracis*
- Brucellaceae :
 - toutes les *Brucella*, à l'exception de *Brucella ovis*
- Burkholderiaceae :
 - *Burkholderia mallei*
 - *Burkholderia pseudomallei*
- Clostridiaceae :
 - *Clostridium botulinum*
- Francisellaceae :
 - *Francisella tularensis*
- Rickettsiaceae :
 - *Rickettsia prowazekii*
 - *Rickettsia rickettsii*

b) Les virus :

- Arenaviridae :
 - virus Guanarito
 - virus Junin
 - virus Lujo
 - virus Chapare
 - virus Whitewater Arroyo

- Bunyaviridae :
 - > Phlebovirus :
 - virus de la fièvre de la vallée du Rift
 - > Hantavirus :
 - virus Sin Nombre
 - virus Hantaan
 - virus Seoul
 - virus Laguna Negra
 - virus Dobrava-Belgrade
 - virus Choclo
- Flaviviridae :
 - virus de la maladie de la forêt de Kyasanur
 - virus de la fièvre hémorragique d'Omsk
- Orthomyxoviridae :
 - virus de grippe aviaire de type A et sous-type H5N1, responsables d'infection humaine
 - virus de grippe aviaire de type A et sous-types H7N7 et H7N3, responsables d'infection humaine
- Picornaviridae :
 - virus poliomyélitique

c) Les toxines :

- la ricine
- l'entérotoxine B du *Staphylococcus aureus*, pour toute détention d'une quantité supérieure à

- 1 mg pour un même établissement
- les saxitoxines, pour toute détention d'une quantité supérieure à 1 mg pour un même établissement
- les toxines botuliques
- la toxine epsilon de *Clostridium perfringens*

2° Parties des micro-organismes mentionnés au 1° de la liste n° 1 et au 1° de la liste n° 2.

Aux fins d'application de l'arrêté, on entend par partie de micro-organisme un fragment du matériel génétique dès lors que :

- sa séquence en acide désoxyribonucléique (ADN) dépasse 500 paires de base de longueur
- ou sa séquence en acide ribonucléique (ARN) dépasse 500 bases de longueur.

3° Parties des toxines mentionnées au 1° de la liste n° 2.

Aux fins d'application de l'arrêté, on entend par partie de toxine un fragment des toxines protéiques dès lors que sa séquence peptidique dépasse 167 acides aminés de longueur.

Annexe 3. Liste des micro-organismes hautement pathogènes et toxines (suite)

4° Micro-organismes génétiquement modifiés issus d'un des micro-organismes hautement pathogènes mentionnés au 1° de la liste n° 1,

lorsqu'ils présentent un risque pour la santé publique strictement inférieur à celui présenté par la souche parentale dont ils sont issus.

5° Micro-organismes génétiquement modifiés issus d'un des micro-organismes mentionnés au 1° de la liste n° 2,

lorsqu'ils présentent un risque pour la santé publique inférieur ou égal à celui présenté par la souche parentale dont ils sont issus.

6° Organismes, en particulier les micro-organismes, génétiquement modifiés intégrant une partie d'un des micro-organismes hautement pathogènes mentionnés au 1° de la liste n° 1.

7° Organismes, en particulier les micro-organismes, génétiquement modifiés intégrant une partie d'un des micro-organismes mentionnés au 1° de la liste n° 2.

8° Organismes, en particulier les micro-organismes, génétiquement modifiés contenant du matériel génétique codant pour les parties des toxines mentionnées au 3° de la liste n° 2.

Cette déclaration doit être associée au document unique d'évaluation des risques professionnels. Le directeur d'unité s'engage à la mettre à jour pour toute nouvelle manipulation d'agents biologiques pathogènes. Elle doit être envoyée aux ingénieurs de prévention, CNRS et partenaires, dont vous dépendez.

1. INFORMATIONS RELATIVES A L'ÉTABLISSEMENT

1.1 Identification de l'établissement

Dénomination ou raison sociale

.....

Adresse postale de l'établissement

.....

Nom et Prénom du chef d'établissement

.....

1.2 Identification du lieu de détention

Unité (nom et numéro)

.....

Adresse

.....

Nom et prénom du directeur

.....

Nom et prénom du médecin de prévention

.....

Nom et prénom de l'assistant de prévention

.....

2. RECENSEMENT DES AGENTS BIOLOGIQUES PATHOGÈNES

Détient des agents biologiques pathogènes du groupe 2

Détient des agents biologiques pathogènes du groupe 3

3. SIGNATURE DU DIRECTEUR D'UNITÉ

Le directeur d'unité certifie l'exactitude des déclarations mentionnées au verso.

Fait à

.....

Le

.....

Le directeur d'unité (*nom, prénom, signature*)

Visa de l'Assistant de Prévention (*nom, prénom, signature*)

Liste des agents biologiques pathogènes du groupe 2

AGENT BIOLOGIQUE	TYPE *

Mesures de prévention et de protection prévues :

- Présence d'un laboratoire confiné L2 conforme à l'arrêté du 16/07/07.
Nom et prénom du responsable
.....
.....
- Existence et affichage d'un règlement intérieur spécifique au L2.
- Formation des personnels autorisés.
- Liste des agents exposés communiquée au médecin de prévention.
- Mise à disposition des EPI adaptés.
- Affichage des consignes de sécurité.
- Affichage des conduites à tenir en cas d'accident d'exposition.
- Affichage des procédures d'urgence en cas de contamination.
- Existence et affichage des procédures de décontamination des surfaces et d'inactivation des effluents.
- Mise en place d'une gestion des déchets par une filière agréée.

* Type : B (bactérie), V (virus), C (champignon), P (parasite), PR (prion), LC (lignée cellulaire)

Liste des agents biologiques pathogènes du groupe 3

AGENT BIOLOGIQUE	TYPE *

Mesures de prévention et de protection prévues :

- Présence d'un laboratoire confiné L3 conforme à l'arrêté du 16/07/07.
Nom et prénom du responsable
.....
.....
- Existence d'un comité de suivi du L3.
- Existence et affichage d'un règlement intérieur spécifique au L3.
- Formation des personnels autorisés.
- Liste des agents exposés communiquée au médecin de prévention.
- Mise à disposition des EPI adaptés.
- Affichage des consignes de sécurité.
- Affichage des conduites à tenir en cas d'accident d'exposition.
- Existence et affichage des procédures d'urgence en cas de contamination.
- Existence et affichage des procédures de décontamination des surfaces et d'inactivation des effluents.
- Mise en place d'une gestion des déchets par une filière agréée.
- En l'absence d'un autoclave à double entrée, mesures compensatoires permettant une gestion des déchets sécurisée.

L'évaluation du danger d'un OGM doit prendre en compte le danger 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 recombinaison avec des séquences de l'hôte,
- à être complétés par des séquences présentes chez l'hôte.

Insert

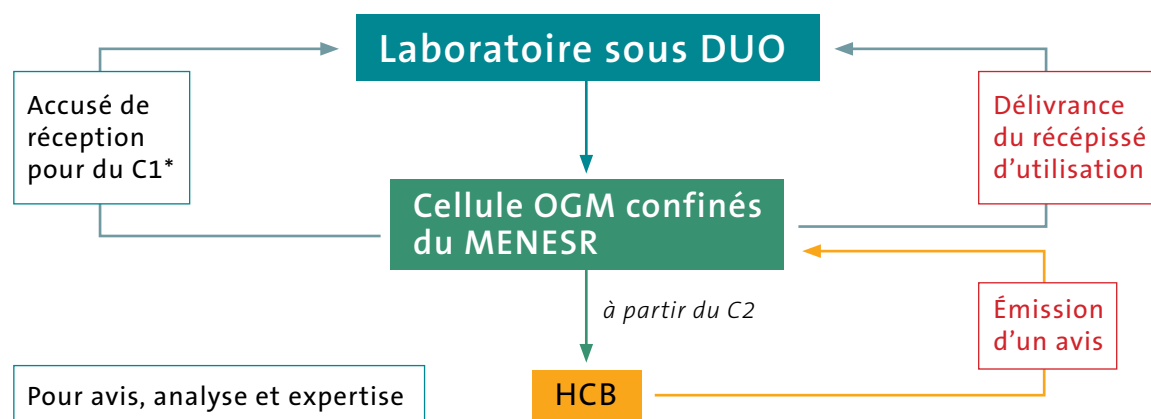
La séquence insérée, si elle ne présente pas de danger, est dite de catégorie A.

Elle appartient à la catégorie B si elle peut être 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.

Le document actuellement disponible en ligne pour réaliser le classement d'un OGM est : [«Manuel du HCB pour l'utilisation confinée d'Organismes Génétiquement Modifiés»](#).

Cheminement d'un dossier de déclaration ou de demande d'agrément



* Il peut arriver que ces dossiers soient expertisés de façon aléatoire.

Utilisation d'OGM en milieu confiné

La réglementation introduit la notion de simple déclaration ou de demande d'agrément :

- Les utilisations confinées d'OGM rangés dans la classe de confinement 1 sont soumises à déclaration.
- Les utilisations confinées d'OGM rangés dans les classes de confinement 2 à 4 sont soumises à agrément.

Toutefois, lorsqu'une utilisation confinée, rangée dans la classe de confinement 2, doit être mise en œuvre dans une installation où une utilisation

d'OGM de même classe de confinement ou de classe supérieure a déjà été agréée, cette utilisation est soumise à simple déclaration.

Formalités administratives

Ces deux démarches sont obligatoirement préalables aux manipulations des OGM.

Depuis octobre 2013, elles doivent être obligatoirement réalisées en ligne via l'application **DUO** (Déclaration d'Utilisation d'OGM). Une aide en ligne est consultable sur le [site](#) du MENESR, notamment, le [guide OGM](#) en milieu confiné de juin 2013.

Les acteurs : rôles et obligations

- exploitant du laboratoire** où l'OGM sera mis en œuvre : personne juridique, physique ou morale, responsable des locaux confinés où seront mis en œuvre les OGM (délégué régional, président d'université...).
- signer la déclaration simple d'utilisation ou de la soumission à agrément ;
- s'assurer de son envoi et de sa bonne réception au MENESR.
- directeur des travaux de recherche** : responsable scientifique de l'utilisation de l'OGM (directeur d'unité).
- décrire la conformité des locaux (A1, L2...), des équipements (PSM, autoclave...) et des procédures (gestion des déchets...) au regard de l'évaluation des risques ;
- signer la déclaration simple d'utilisation ou de la soumission à agrément ;
- envoyer le dossier et réceptionner l'accusé de réception ;
- veiller au bon encadrement des manipulateurs placés sous sa responsabilité ;
- s'assurer de la formation de son personnel et de son suivi.

Nota bene

Les dispositions relatives à l'utilisation d'OGM, présentées ici, sont susceptibles d'évoluer. Il est donc recommandé de consulter régulièrement le site du [MENESR](#).

Dispositions relatives à la déclaration d'utilisation (groupe I, ou groupe II dans locaux déjà agréés)

Via l'application DUO, l'exploitant transmet à la cellule OGM confinés du MENESR la déclaration d'utilisation, comportant un dossier technique décrivant les OGM devant être mis en œuvre.

Si le dossier est incomplet, le MENESR le met en attente et adresse un courrier réclamant les pièces manquantes.

Dès que le dossier est complet, le Ministère délivre au directeur des travaux de recherche un récépissé. Dès sa réception, l'utilisation de l'OGM peut être entreprise.

La déclaration est limitée à 5 ans et n'est donnée que pour l'utilisation confinée décrite.

Dispositions relatives à l'agrément d'utilisation (groupes II, locaux non encore agréés)

Via l'application DUO, l'exploitant transmet à la cellule OGM confinés du MENESR la demande

d'agrément d'utilisation, comportant un dossier technique décrivant les OGM devant être mis en œuvre.

Si le dossier est incomplet, le MENESR le met en attente et adresse un courrier réclamant les pièces manquantes.

Lorsque le dossier est complet, le MENESR le transmet pour avis au HCB. Un fois donné, cet avis est transmis au MENESR qui délivre l'agrément.

Le délai complet d'instruction d'un dossier est de 45 jours.

L'agrément d'utilisation est délivré pour une période de 5 ans maximum par arrêté du ministre chargé de la recherche qui en informe le ministre chargé de l'environnement.

Dispositions relatives à l'agrément d'utilisation (groupes III et IV)

Via l'application DUO, l'exploitant transmet à la cellule OGM confinés du MENESR la demande d'agrément d'utilisation. Pour des raisons de confidentialité, le dossier technique décrivant les OGM devant être mis en œuvre ne peut être transmis que sous format papier.

Si le dossier est incomplet, le MENESR le met en attente et adresse un courrier réclamant les pièces manquantes.

Lorsque le dossier est complet, le MENESR le

transmet pour avis au HCB. Un fois donné, cet avis est transmis au MENESR qui délivre l'agrément.

Le délai complet d'instruction d'un dossier est de 90 jours.

L'agrément d'utilisation est délivré pour une période de 5 ans maximum par arrêté du ministre chargé de la recherche qui en informe le ministre chargé de l'environnement.

La demande d'agrément d'une utilisation confinée d'OGM de classe de confinement 3 ou 4 comprend également un plan d'urgence. Ce plan définit les modalités d'organisation, les méthodes d'intervention et les moyens nécessaires, y compris en matière d'alerte et d'information, que l'exploitant de l'installation met en œuvre pour assurer la protection du personnel et de la population.

Pour information, ce plan d'urgence est transmis par le MENESR, après visa du ministre, à la mairie du lieu d'exploitation de l'OGM.

De plus, lorsque l'agrément porte sur la première utilisation, la demande comprend un dossier d'information destiné au public. Dès la délivrance de l'agrément par le MENESR, l'exploitant transmet ce dossier au maire afin qu'il puisse être affiché en mairie.

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 informations présentées ne concernent que l'éthique des recherches ayant des implications en termes de risque biologique.

Les recherches sur la personne englobent deux domaines, les recherches sur les éléments du corps humains et les recherches biomédicales, et répondent de ce fait à des principes éthiques intégrés dans des cadres législatifs distincts, selon qu'il s'agit de l'un ou l'autre. En effet, un même geste effectué pour un projet de recherche sur des échantillons biologiques humains peut être classé différemment, selon les conditions dans lesquelles il est réalisé.

Ces conditions et les démarches associées sont décrites dans cette fiche.

Définitions

• Éléments du corps humain

Par éléments du corps humain sont visés les organes, les tissus, les cellules, les lignées cellulaires, le sang ainsi que leurs dérivés, y compris l'ADN, l'ARN, les protéines...

Toute recherche faisant intervenir des échantillons biologiques humains (prélèvement de sang, de peau, prélèvement d'un « tube en plus » lors du soin, utilisation de déchets opératoires...) doit répondre à la législation sur la conservation ou l'utilisation des éléments du corps humain à des fins scientifiques.

• Recherche biomédicale

Une recherche est qualifiée de « biomédicale » lorsque la personne s'y prêtant est mise à contribution spécifiquement pour cette recherche et notamment lorsque les prélèvements sortent du cadre du soin prévu, ou sont effectués en dehors du cadre du soin Article L. 1121-1 du CSP : « Les recherches organisées et pratiquées sur l'être humain en vue du développement des connaissances biologiques ou médicales [...] sont désignées ci-après par les termes « recherche biomédicale » ».

Des échantillons obtenus dans le cadre d'une recherche biomédicale n'entrent dans le cadre de la législation sur les éléments du corps humain que s'ils sont conservés après la fin de cette recherche biomédicale.

Exigences réglementaires

• communes

Les recherches sur la personne sont régies par les lois relatives à la bioéthique de 1994 (révisées en 2011) ainsi que par la loi Huriet-Sérusclat modifiée (révisée en 2012 par la loi Jardé).

Le fait que ces recherches puissent donner lieu à un traitement de données personnelles contraint également au respect de la loi Informatique, Fichiers et Libertés du 6 janvier 1978 (modifiée en 2004)².

• relatives aux éléments du corps humain

Des dispositions du code de la santé publique (CSP) soumettent à un régime de déclaration ou d'autorisation toutes les activités de préparation et de conservation des éléments du corps humain pour les besoins des propres programmes de recherche d'un organisme. Cette législation s'applique notamment aux échantillons obtenus indirectement, par le biais de laboratoires et établissements collaborateurs (EFS...) ou d'hôpitaux ou par des voies commerciales (sociétés commercialisant les lignées cellulaires telles que l'ATCC).

Les seuls prélèvements non concernés sont ceux de type cheveux, ongles, poils, dents...

L'accord du ministère de la Recherche sur l'activité de prélèvement, de conservation et d'utilisation d'éléments du corps humain et leurs dérivés doit être obtenu, aval au cours duquel les comités de protection des personnes³. Ces assemblées multidisciplinaires avalisent les recherches effectuées sur des sujets humains qui leurs sont soumis pour vérifier les conditions de réalisation de celles-ci (exigences scientifiques et méthodologiques, éthiques) (CPP) sont consultés sur les conditions d'information et de consentement des personnes.

² Voir service C.I.L. du CNRS : <http://www.cil.cnrs.fr/CIL/spip.php?article1411>

³ Les comités de protection des personnes ou CPP ont été créés par la loi Huriet Sérusclat

- **relatives aux recherches biomédicales**

Selon les dispositions du CSP, une recherche biomédicale est autorisée à la fois par les CPP et l'ANSM.

La responsabilité de la recherche incombe alors à l'organisme promoteur, à savoir celui qui prend l'initiative de la recherche et qui en assure la gestion.

Les personnes qui se prêtent à la recherche (sujets étudiés ou donneur d'échantillons) doivent alors être protégées par une assurance spécifique prise par le promoteur.

- **modifications réglementaires à venir**

Les modifications récentes apportées par la loi Jardé tendent à donner un cadre législatif et réglementaire commun à toutes les recherches sur l'homme. Les décrets et les arrêtés à paraître doivent préciser de nombreux points. Après la parution de ces textes, le champ de cette loi couvrira ainsi :

- 1) les différents types de prélèvements pour la recherche : de l'écouvillonnage salivaire au recueil d'excrétas (urine...) ou de liquides physiologiques (liquide céphalo-rachidien...),
- 2) toute recherche faisant participer la personne : étude de son comportement, de sa physiologie comme l'imagerie de différents aspects physiologiques (électro-encéphalogramme magnéto-encéphalogramme...) ou anatomiques
- 3) des études épidémiologiques ou réalisées par le biais de questionnaires.

En pratique au CNRS

Lorsque le CNRS n'est pas l'hébergeur, il conviendra de se rapprocher de la direction de l'établissement partenaire.

La cellule « Réglementation Bioéthique » de l'institut des sciences biologiques (INSB) répond aux questions des chercheurs concernés par ces questions et les conseille dans leurs démarches :

<http://www.cnrs.fr/insb/presentation/ethique.htm>

- **les éléments du corps humain**

Lorsque cette démarche est réalisée par le CNRS, la déclaration ou la demande d'autorisation de conservation et de préparation à des fins scientifiques d'éléments du corps humain sont signées par le directeur de l'INSB, par délégation du président. Ces autorisations sont valables 5 ans et un rapport d'activité est à effectuer au bout de 5 ans. La demande doit être préremplie sur le site du MENESR : https://appliweb.dgri.education.fr/appli_web/codecoh/IdentCodec.jsp

- **les recherches biomédicales**

Lorsque le CNRS est le promoteur, les demandes d'autorisation et d'avis éthique au CPP sont signées par le directeur de l'INSB, par délégation du président.

Les informations concernant la procédure CNRS ont un site dédié :

http://www.dgdr.cnrs.fr/mpr/pratique/instructions/Ins_Jur/Huriet/huriet.htm

Une fois la recherche biomédicale terminée, si les échantillons sont conservés, le laboratoire doit faire la déclaration d'une conservation des échantillons au-delà de la fin de la recherche.

- **les recherches sur l'embryon et les cellules souches embryonnaires humaines**

Les demandes d'autorisation sont à effectuer par le responsable de la recherche et doivent être signées par le chef d'établissement (au CNRS, le délégué régional par délégation du président).

Les démarches nécessaires et les dossiers sont téléchargeables sur le site de l'Agence de Biomédecine :

<http://www.agence-biomedecine.fr/Recherche-sur-l-embryon>

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 du groupe 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 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,
- 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,
- vestiaire séparé destiné aux effets personnels,
- présence d'une vitre permettant de voir les occupants,
- 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),
- portes et fenêtres devant être fermées pendant l'exécution du travail,
- étanchéité* du local pour en permettre la désinfection.



Aménagements internes

- surfaces imperméables à l'eau, faciles à nettoyer et résistantes aux agents de nettoyage et de désinfection,
- évier ou lavabo permettant le lavage des mains. Pour les nouvelles installations, les robinets devront être à commande non manuelle,
- poste de sécurité microbiologique de type II (PSM type II),
- vêtements de protection appropriés,
- cages, moyens de contention, procédures d'euthanasie appropriées aux espèces animales,
- moyens de lutte efficace contre les rongeurs et insectes,
- autoclave* de préférence à l'étage et facilement accessible,
- centrifugeuse à proximité* : utiliser des tubes étanches,
- étuve à proximité*.

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).
- appliquer les bonnes pratiques de laboratoires :
 - > porte une blouse. Il est conseillé d'en avoir une facilement identifiable (par ex. de couleur). La retirer après manipulation et la laisser dans le local.
 - > porter les équipements de protection individuelle (gants ; masque(1)(2), lunettes(1)...)*
 - > 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 identifiées,
- > 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 de préférence des tubes bouchés 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 L2,
- ne pas recapuchonner les aiguilles : récupérer les aiguilles et matériels coupants dans une boîte spéciale imperforable « safetybox »,
- privilégier l'utilisation du 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 le double emballage.

(1) si risque chimique associé

(2) si risque de contamination aérienne

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 laboratoires :
 - > 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. Dans le cas contraire, les blouses devront être autoclavées avant d'être envoyées à la blanchisserie.
 - > 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

Les animaleries sont conçues dans le respect de la réglementation et des principes éthiques liés à l'utilisation d'animaux à des fins scientifiques (Décret 118-2013 et arrêtés).

Aménagement et équipements

Les locaux doivent être fermés avec des accès contrôlés et limités.

Différentes zones constituent une animalerie :

- unités d'hébergement des animaux,
- salles d'expérimentation et laboratoires,
- salles de stockage de matériels, d'aliments, litières,
- laveries,
- circulations permettant de respecter le principe de la marche en avant,
- sas et vestiaires,
- quarantaine hébergeant les animaux à leur arrivée ou au statut sanitaire incertain,
- infirmerie pour l'isolement d'animaux présentant des symptômes.

L'ensemble doit être protégé contre les intrusions (vitres antieffraction...). Les ouvertures doivent être munies de dispositifs empêchant l'intrusion d'animaux indésirables (insectes, rongeurs sauvages...) ou la sortie d'animaux.

Pour le personnel, l'animalerie doit comporter un bureau, des vestiaires, des sanitaires, des moyens de communication vers l'extérieur ainsi que des portes munies d'oculus.

L'hébergement des animaux doit assurer les besoins physiologiques et cognitifs de l'espèce considérée (dimensions adaptées des cages ou enclos, enrichissement du milieu...).

Une animalerie doit avoir un système de ventilation adapté aux espèces et de climatisation spécifique et secouru. Un système de contrôle et d'enregistrement des paramètres environnementaux doit être présent (au minimum la température). Les matériaux intérieurs et les équipements doivent être facilement nettoyables et décontaminables (chimique : ex. peroxyde d'hydrogène, chaleur sèche ou humide).

Les locaux doivent être agréés, pour une période de 6 ans, par la Direction Départementale de Protection des Populations du département de l'établissement utilisateur.

Animaux

- Les animaux doivent provenir d'élevages agréés ;
- les animaux sauvages doivent être placés en quarantaine et leur statut sanitaire régulièrement contrôlé ;
- en cas de symptômes cliniques, isoler les animaux, réaliser un diagnostic puis un traitement adapté ou l'euthanasie des animaux malades ;
- les espèces doivent être hébergées séparément ;
- l'observation quotidienne des animaux doit être assurée par les personnes compétentes ;
- 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 unités d'hébergement.

Bonnes pratiques

- Les personnes utilisant des animaux à des fins scientifiques doivent être compétentes. Pour cela, elles doivent suivre des Formations réglementaires obligatoires dans l'année de prise de fonction :
 - > Niveau concepteur (ex niveau 1) pour les personnes ayant la responsabilité des projets et des procédures expérimentales Formation spécifiques en chirurgie.
 - > Niveau opérateur (ex niveau 2) pour les personnes participant aux procédures expérimentales (techniciens...).
 - > Niveau soigneur (ex niveau 3) pour les personnes réalisant les soins et l'entretien des animaux

En outre, une mise à jour des compétences est obligatoire (3 jours de formation continue tous les 6 ans)

- Pour les espèces de la faune sauvage, au moins une personne doit être titulaire du certificat de capacité pour l'entretien d'animaux d'espèces non domestiques.
- Les projets de recherche doivent, avant leur mise en œuvre, être soumis à une autorisation de projet délivré par le ministère en charge de la Recherche après l'avis d'un comité d'éthique.
- Assurer le suivi médical et la formation préalable et obligatoire du personnel (connaissances du comportement des animaux à manipuler et maîtrise gestuelle).

- Tenir les registres obligatoires (entrées et sorties d'animaux, registre des médicaments).
- Procédures mises en place, affichées et connues de tous (nettoyage, décontamination, urgence...).
- Port des EPI adaptés obligatoires (blouse, gants, masque, lunettes, bottes, charlotte...), et spécifiques de chaque zone ; préférer le matériel à usage unique.
- Matériel entretenu et adapté aux espèces présentes.
- Nettoyage et décontamination réguliers de la structure et des équipements.
- Ne pas boire, manger et fumer.
- Mise en place d'un programme de lutte contre les insectes et rongeurs sauvages nuisibles.

⋮ Lien : <http://ethique.ipbs.fr/sdv/index.html>

Les animaleries sont conçues dans le respect de la réglementation et des principes éthiques liés à l'utilisation d'animaux à des fins scientifiques (Décret 118-2013 et arrêtés).

Aménagement et équipements

Le pictogramme « danger biologique » doit être présent à l'entrée. En général, il est recommandé que l'animalerie A2 soit localisée dans une zone isolée du bâtiment, à l'écart du passage des personnels non concernés. Les locaux doivent être fermés avec des accès contrôlés et limités.



Différentes zones constituent une animalerie A2 :

- unités d'hébergement des animaux,
- salles d'expérimentation et laboratoires,
- salles de stockage de matériels, d'aliments, litières,
- laveries,
- circulations permettant de respecter le principe de la marche en avant,
- sas et vestiaires,
- infirmerie pour l'isolement d'animaux présentant des symptômes.

Un autoclave doit être disponible à proximité de l'animalerie, afin de décontaminer tout le matériel sortant de la zone.

L'intérieur de la zone doit être placé en dépression par rapport au milieu extérieur.

L'ensemble doit être protégé contre les intrusions (vitres antieffraction...).

Les ouvertures doivent être munies de dispositifs empêchant l'intrusion d'animaux indésirables (insectes, rongeurs sauvages...) ou la sortie d'animaux.

Pour le personnel, l'animalerie doit comporter un bureau, des vestiaires, des sanitaires, des moyens de communication vers l'extérieur ainsi que des portes munies d'oculus.

L'hébergement des animaux doit assurer les besoins physiologiques et cognitifs de l'espèce considérée (dimensions adaptées des cages ou enclos, enrichissement du milieu...).

Une animalerie doit avoir un système de ventilation adapté aux espèces et de climatisation spécifique et secouru. Un système de contrôle et d'enregistrement des paramètres environnementaux doit être présent (au minimum la température).

Les matériaux intérieurs et les équipements doivent être facilement nettoyables et décontaminables (chimique : ex. peroxyde d'hydrogène, chaleur sèche ou humide)

Les locaux doivent être agréés, pour une période de 6 ans, par la Direction Départementale de Protection des Populations du département du laboratoire.

Animaux

- Les animaux doivent provenir d'élevages agréés ;
- les animaux sauvages doivent être placés en quarantaine et leur statut sanitaire régulièrement contrôlé ;
- en cas de symptômes cliniques, isoler les animaux, réaliser un diagnostic puis un traitement adapté ou l'euthanasie des animaux malades ;
- les espèces doivent être hébergées séparément ;
- l'observation quotidienne des animaux doit être assurée par les personnes compétentes.

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 unités d'hébergement.

Bonnes pratiques

- Une personne clairement identifiée et formée est responsable de la structure.
- Limiter l'accès au personnel autorisé et prévenu du risque infectieux.
- Les personnes utilisant des animaux à des fins scientifiques doivent être compétentes. Pour cela, elles doivent suivre des formations réglementaires obligatoires dans l'année de prise de fonction:
 - > Niveau concepteur (ex niveau 1) pour les personnes ayant la responsabilité des projets et des procédures expérimentales
 - > Niveau opérateur (ex niveau 2) pour les personnes participant aux procédures expérimentales (techniciens...).
 - > Niveau soigneur (ex niveau 3) pour les personnes réalisant les soins et l'entretien des animaux

En outre, une mise à jour des compétences est obligatoire (3 jours de formation continue tous les 6 ans)

- Pour les espèces de la faune sauvage, au moins une personne doit être titulaire du certificat de capacité pour l'entretien d'animaux d'espèces non domestiques.
- Les projets de recherche doivent, avant leur mise en œuvre, être soumis à une autorisation de projet délivrée par le ministère en charge de la Recherche après l'avis d'un comité d'éthique.

- Assurer le suivi médical.
- Tenir les registres obligatoires (entrées et sorties d'animaux, registre des médicaments).
- Procédures mises en place, affichées et connues de tous (nettoyage, décontamination, urgence...).
- Port des EPI adaptés obligatoire (blouse, gants, masque, lunettes, bottes, charlotte...), et spécifiques de la zone ; préférer le matériel à usage unique.
- Toutes les manipulations doivent être réalisées sous PSM de type II, en limitant la création d'aérosols.
- Le matériel doit être entretenu et adapté aux espèces présentes.
- Nettoyage et décontamination réguliers de la structure et des équipements.
- Employer le matériel de contention afin de limiter les risques d'agression ou de réaction de l'animal.
- Ne pas boire, manger et fumer.
- Mise en place d'un programme de lutte contre les insectes et rongeurs sauvages nuisibles.
- Tous les déchets (solides, liquides ou coupants) doivent être inactivés à la sortie de la zone avant leur élimination dans la filière des DASRI.

⋮ Lien : <http://ethique.ipbs.fr/sdv/index.html>

Les animaleries sont conçues dans le respect de la réglementation et des principes éthiques liés à l'utilisation d'animaux à des fins scientifiques (décret 118-2013 et arrêtés).

Aménagement et équipements

Le pictogramme « danger biologique » doit être présent à l'entrée. En général, il est recommandé que l'animalerie A3 soit localisée dans une zone isolée du bâtiment, à l'écart du passage des personnels non concernés. Les locaux doivent être fermés avec des accès contrôlés et limités.



Différentes zones constituent une animalerie A3 :

- unités d'hébergement des animaux,
- salles d'expérimentation et laboratoires,
- salles de stockage de matériels, d'aliments, litières,
- laveries,
- circulations permettant de respecter le principe de la marche en avant,
- sas et vestiaires,
- infirmerie pour l'isolement d'animaux présentant des symptômes.

Un autoclave double-entrée doit être disponible dans l'animalerie, afin de décontaminer tout le matériel sortant de la zone.

L'intérieur de la zone doit être placé en dépression par rapport au milieu extérieur. L'entrée en zone se fait par un double-sas en dépression intermédiaire (cascade de pressions).

L'ensemble doit être protégé contre les intrusions (vitres antieffraction...). Les ouvertures doivent

être munies de dispositifs empêchant l'intrusion d'animaux indésirables (insectes, rongeurs sauvages...) ou la sortie d'animaux.

Pour le personnel, l'animalerie doit comporter un bureau, des vestiaires, des moyens de communication vers l'extérieur ainsi que des portes munies d'oculus, des dispositifs de lavage des mains à commande automatique et placés près de la sortie.

L'hébergement des animaux doit assurer les besoins physiologiques et cognitifs de l'espèce considérée (dimensions adaptées des cages ou enclos, enrichissement du milieu...).

Une animalerie doit avoir un système de ventilation adapté aux espèces et de climatisation spécifique et secouru. Un système de contrôle et d'enregistrement des paramètres environnementaux doit être présent (au minimum la température).

L'air extrait doit être filtré sur des filtres à très haute efficacité (dits filtres HEPA).

Les matériaux intérieurs et les équipements doivent être facilement nettoyables et décontaminables (chimique : ex. peroxyde d'hydrogène, chaleur sèche ou humide).

Les locaux doivent être agréés, pour une période de 6 ans, par la Direction Départementale de Protection des Populations du département du laboratoire.

Animaux

- Les animaux doivent provenir d'élevages agréés ;
- Les animaux sauvages doivent être placés en quarantaine et leur statut sanitaire régulièrement contrôlé ;
- En cas de symptômes, isoler les animaux, réaliser un diagnostic puis un traitement adapté ou l'euthanasie des animaux contaminés ;
- Les espèces doivent être hébergées séparément ;
- L'observation quotidienne des animaux doit être assurée par des personnes compétentes.

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 unités d'hébergement.

Bonnes pratiques

- Une personne clairement identifiée et formée est responsable de la structure.
- Limiter l'accès au personnel autorisé et prévenu du risque infectieux.
- Les personnes utilisant des animaux à des fins scientifiques doivent être compétentes. Pour cela, elles doivent suivre des Formations réglementaires obligatoires dans l'année de prise de fonction:
 - > Niveau concepteur (ex niveau 1) pour les personnes ayant la responsabilité des projets et des procédures expérimentales
 - Formation spécifiques en chirurgie.

- > Niveau opérateur (ex niveau 2) pour les personnes participant aux procédures expérimentales (techniciens...).
- > Niveau soigneur (ex niveau 3) pour les personnes réalisant les soins et l'entretien des animaux

En outre, une mise à jour des compétences est obligatoire (3 jours de formation continue tous les 6 ans)

- Formation
- Pour les espèces de la faune sauvage, au moins une personne doit être titulaire du certificat de capacité pour l'entretien d'animaux d'espèces non domestiques.
- Les projets de recherche doivent, avant leur mise en œuvre, être soumis à une autorisation de projet délivré par le ministère en charge de la Recherche après l'avis d'un comité d'éthique.
- Assurer le suivi médical.
- Tenir les registres obligatoires (entrées et sorties d'animaux, registre sanitaire, registre des médicaments).
- Procédures mises en place, affichées et connues de tous (nettoyage, décontamination, urgence, accidents...).
- Afficher des consignes strictes définissant les méthodes de décontamination de toute la zone A3.
- Afficher des consignes en cas d'incident ou d'accident.

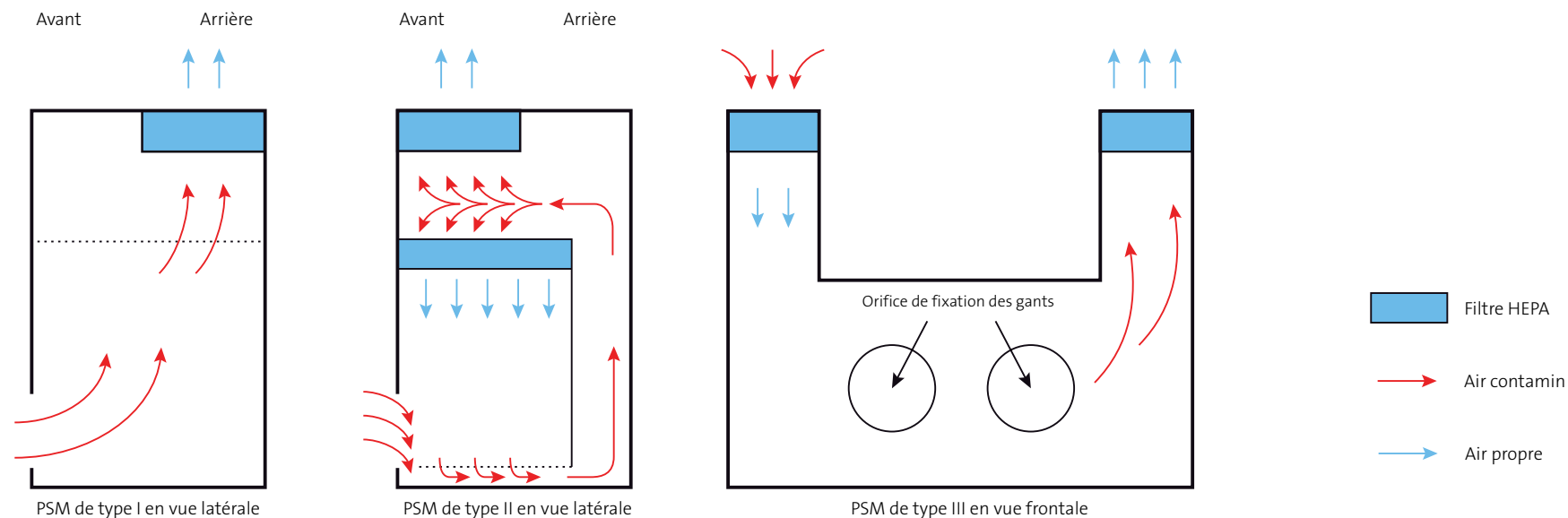
- Port des EPI adaptés obligatoire (combinaison, gants, masques filtrants, lunettes, chaussures fermées, charlotte...), et spécifiques de la zone ; préférer le matériel à usage unique. En général, une tenue complète différente par sas est utilisée et autoclavée avant la sortie.
- Pour la manipulation d'animaux infectés, il est indispensable de porter des gants résistants aux morsures et griffures et d'employer le matériel de contention afin de limiter les risques d'agression ou de réaction de l'animal.
- Toutes les manipulations doivent être réalisées sous PSM de type II, en limitant la création d'aérosols.
- Le matériel doit être entretenu et adapté aux espèces présentes.
- Nettoyage et décontamination réguliers de la structure et des équipements.
- Ne pas boire, manger et fumer.
- Mise en place d'un programme de lutte contre les insectes et rongeurs sauvages nuisibles.
- Tous les déchets (solides, liquides ou coupants) doivent être inactivés à la sortie de la zone avant leur élimination dans la filière des DASRI.

⋮ Lien : <http://ethique.ipbs.fr/sdv/index.html>

Il existe trois types de PSM en fonction des objectifs de protection souhaités :

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 (HEPA).	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.

Schéma des trois types de PSM



Conseils d'utilisation d'un PSM de type II

Avant les manipulations

- Mettre en route le PSM et attendre 15 minutes.
- Anticiper l'ordre des manipulations afin d'éviter les entrées/sorties de matériels du volume de travail, c'est-à-dire regrouper le matériel nécessaire à l'ensemble des manipulations près du PSM.
- Retirer ses bijoux (bagues, bracelets, montres...).
- Nettoyer le plan de travail et les parois avec un détergent non agressif (eau de javel interdite) puis désinfecter (éthanol 70 %, spray désinfectant...).
- Se laver les mains soigneusement.
- Nettoyer les matériels nécessaires aux manipulations avec l'éthanol à 70 % et les disposer dans le volume de travail du PSM. Veiller cependant à ne pas trop encombrer l'enceinte pour éviter de perturber le flux laminaire.

Pendant les manipulations

- N'utiliser dans l'enceinte que du matériel à usage unique stérile (pipettes graduées stériles, anses stériles...).
- Effectuer des gestes calmes à l'intérieur du volume de travail et surtout lors du passage dans la veine de garde (introduction et retrait des mains du volume de travail).
- Maintenir dégagées les grilles de reprise d'air.
- Manipuler au centre de la surface de travail et surtout pas au-dessus des grilles de reprise d'air (au moins à 10 cm de la grille avant), en évitant les mouvements rapides et gestes brusques.
- Jeter le matériel souillé dans un conteneur à déchets biologiques.
- Ne pas placer une flamme nue (bec Bunsen) sous le PSM pour ne pas perturber le flux laminaire et ne pas détériorer les filtres par la chaleur.
- 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.

Après les manipulations

- Ranger le plan de travail et s'assurer de n'y laisser que les portoirs à tubes.
- Nettoyer le plan de travail et les parois avec un détergent non agressif (eau de javel interdite) puis désinfecter (éthanol 70 %, spray désinfectant...).
- Laisser fonctionner le PSM en position « travail » encore 15 à 20 minutes.
- Se laver les mains soigneusement.

Maintenance périodique

Nettoyer à fond le PSM régulièrement, y compris le bac de rétention situé sous le plan de travail. Ce nettoyage doit se faire avec le PSM éteint pour éviter que les lingettes soient aspirées et aillent colmater le filtre.

Fiche 13 Équipements de protection individuelle

Les vêtements de protection

Les vêtements de protection ont pour fonction d'éviter que la peau, et donc l'utilisateur, entre en contact avec des substances biologiques. Ils préviennent également la propagation des germes aussi bien dans le cadre du travail qu'à l'extérieur (voiture, domicile, famille...). De ce fait, le port de la blouse est obligatoire.

En matière de protection contre les micro-organismes pathogènes, la norme EN 14126 : 2003 définit les exigences spéciales auxquelles les matériaux non tissés des vêtements de protection jetables doivent répondre. Ces vêtements de protection sont identifiés à l'aide du pictogramme « risque biologique ».

Préconisations suivant le niveau de confinement

- L1 : port d'une blouse en coton.
- L2 : port d'une blouse dédiée, en coton ou jetable en matériau non tissé. Port de chaussures différentes des chaussures de ville ou de surchaussures. Le port de gants est fonction des résultats de l'évaluation des risques à chaque étape du protocole expérimental.
- L3 : port d'une blouse dédiée, jetable en matériau non tissé. Selon la norme EN 14126 : 2003, il est recommandé de porter des vêtements de protection avec des coutures recouvertes ou soudées, car les virus, bactéries et spores sont suffisamment petits pour traverser les ouvertures des coutures cousues. Port obligatoire de surchaussures, d'une charlotte et de gants.

Les gants

Les gants utilisés dans les laboratoires de biologie doivent répondre aux normes des équipements de protection individuelle. Ils doivent être choisis afin de protéger le porteur contre des risques mortels ou irréversibles.

Les gants EPI doivent porter le marquage CE et être testés conformément aux normes suivantes :

- EN 420 : 2003 : Propriétés générales.
- EN 388 : 2003 : Risques mécaniques (non applicable pour les gants jetables).
- EN 374-1 : 2003 : Risques Chimiques et Biologiques (généralités).
- EN 374-2 : 2003 : Procédures de tests Risques Biologiques (résistance à la pénétration).
- EN 374-3 : 2003 : Procédures de tests Risques Chimiques (résistance à la perméation).

Gants préconisés pour la manipulation de produits biologiques et chimiques (en particulier CMR, radioactivité et agents pathogènes des groupes 2 et 3)

- Gants de type EPI de catégorie III.
- En latex ou nitrile en fonction du ou des produits manipulés.
- Non poudrés de préférence pour éviter les risques d'allergie.
- Conformes aux normes version 2003.
- Résistants aux micro-organismes et aux virus : AQL (porosité) de 0,65 (EN 374-2 : 2003 Niveau 3).

Remarque

Le nettoyage des blouses en coton est interdit à son domicile.

Le responsable d'unité ou de service a obligation de maintenir dans un état satisfaisant les vêtements de travail fournis au personnel. À ce titre, les frais d'entretien et de remplacement doivent être pris en charge par l'unité ou le service.

Afin de s'acquitter au mieux de cette obligation, deux solutions peuvent être envisagées :

- > La signature d'un contrat avec une laverie proche de l'unité ou du service qui assurera l'entretien des tenues de travail déposées par le personnel. Un plan de prévention devra être établi afin d'informer la laverie de la spécificité des tenues de travail (présence de micro-organismes du groupe 1 et/ou de produits chimiques) et d'éventuelles précautions à prendre.
- > La mise à disposition de machines à laver permettant de procéder au nettoyage des tenues de travail.

- Longueur minimale de 26 cm, pour une protection accrue contre les projections de liquide comme stipulé dans la norme EN 374-1 : 2003 pour se conformer à la norme EN 420 : 2003.

Précautions d'usage

- Inspecter les gants avant usage.
- Respecter les procédures de mise en place et de retrait du gant.
- Laver les mains avant et après le retrait.
- Utiliser un gant en nitrile ou latex en fonction des produits manipulés.
- Pratiquer le double gantage lorsque le risque est très élevé.
- Changer les gants très régulièrement.

ATTENTION

- En cas de projection sur un gant jetable, ce dernier doit être changé impérativement et immédiatement. Les gants jetables n'apportent qu'une protection limitée contre les produits chimiques.
- Les gants jetables vendus sous l'appellation de « gants d'examen » ne sont pas des EPI.

Les équipements de protection des yeux et du visage

En laboratoire de biologie, il est parfois nécessaire de protéger ses yeux et son visage contre les risques de projection de liquides contenant des micro-organismes susceptibles de contaminer l'individu.

Les protections oculaires et/ou faciales doivent porter le marquage CE et répondre à la norme EN 166. Lors du choix de ces EPI, il faut également tenir compte d'éléments de confort qui assureront une bonne adaptation de la protection, tels que la qualité optique, la présence de branches ajustables, le poids, la conception du pont nasal sans oublier l'aspect esthétique.

Préconisation

Les lunettes masques ou les écrans faciaux sont particulièrement adaptés contre les projections de gouttelettes ou de liquides. Ils sont également plus efficaces pour se protéger contre les chocs, comme, par exemple, lors de l'éclatement d'un microtube.

Ces EPI peuvent également protéger contre les rayonnements ultraviolets s'ils répondent à la norme EN 170 qui propose une aide au choix des filtres en fonction de la longueur d'onde.

Les appareils de protection respiratoire (APR)

Pour des agents biologiques pathogènes par inhalation, le port d'appareils de protection respiratoire filtrants anti-aérosols peut s'avérer nécessaire suivant les conditions de manipulation.

Les appareils de protection respiratoire filtrants doivent répondre à la norme EN 149 : 2001 s'il s'agit d'appareils de protection respiratoire à usage unique.

En cas de risque chimique associé, la cartouche filtrante à adapter sur un masque à gaz doit répondre à la norme EN 143.

Préconisation

Pour la manipulation d'agents pathogènes du groupe 2, ils doivent porter les mentions FFP2 (APR jetables) et P2 (cartouches).

Pour la manipulation d'agents pathogènes du groupe 3, ils doivent porter les mentions FFP3 (APR jetables) et P3 (cartouches).

Précautions d'usage

- Choisir l'APR en fonction de l'organisme pathogène manipulé.
- Choisir un APR adapté à sa morphologie (ne pas hésiter à en essayer plusieurs).
- Préférer des masques jetables munis de soupape d'expiration pour un meilleur confort d'utilisation.
- Respecter les procédures de mise en place et de retrait et notamment le test d'étanchéité.

Fiche 13 Équipements de protection individuelle

- Laver les mains avant la mise en place de l'APR et après le retrait.
- Jeter les masques dans les poubelles DASRI.
- Les masques de protection jetables sont à usage unique et personnel.
- Les masques de protection réutilisables doivent être désinfectés après chaque utilisation.

Bon à savoir

Le pouvoir de filtration du masque n'est pas altéré par le colmatage du filtre.

ATTENTION

- Le masque chirurgical sert à protéger le patient contre les aérosols émis par le soignant. En aucun cas, cet équipement médical ne protège contre un agent biologique infectieux.

ADRESSE DU SITE DE L'INTERVENTION *(préciser le bâtiment, l'étage, le numéro de pièce)*

.....

.....

.....

NATURE DE L'INTERVENTION

.....

.....

.....

DATE DE L'INTERVENTION	NIVEAU DE CONFINEMENT BIOLOGIQUE	APPAREIL/ZONE	MÉTHODE DE DÉCONTAMINATION

Certificat établi par

En qualité de

Fait à

Le

Signature

Transmis à

Le

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

La désinfection par voie chimique

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 stabilisée en bouteilles titrant 9 degrés chlorométriques ou 2,6 % de chlore actif, conservation environ six mois ;
- Solution concentrée titrant 36 degrés chlorométriques ou 9,6 % de chlore actif à diluer ;
- Comprimés de dichloroisocyanurate de sodium d'utilisation facile, mais d'activité désinfectante moindre.

À partir de la solution mère à 9 degrés chlorométriques, différentes dilutions sont réalisées extemporanément avec de l'eau froide ou tiède.

Précautions à prendre

L'eau de Javel doit toujours être utilisée seule. Elle est incompatible avec les acides forts, les détergents cationiques et le formaldéhyde en solution concentrée.

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

Son activité est partiellement inhibée par les protéines et l'eau calcaire.

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.

Elle est irritante pour la peau, les yeux et les voies respiratoires.

Il est préconisé de porter des gants et des lunettes pour manipuler ce produit.

Exemples d'utilisation

- Matériel souillé : dilution au 1/10^e à partir de la solution à 2,6 % de chlore actif, temps de contact minimum de 15 minutes.
- Surnageant de culture, sang : dilution au ¼ à partir de la solution à 2,6 % de chlore actif, temps de contact minimum de 30 minutes à cause des protéines.

L'éthanol

L'éthanol détruit essentiellement les bactéries. Il peut être utilisé pour décontaminer des surfaces ou du matériel.

L'éthanol doit être dilué à 70 % pour une efficacité optimale (ne jamais utiliser d'éthanol absolu).

Précautions à prendre

Son action est peu sensible à la présence de protéines.

Il est incompatible avec les oxydants forts (dichromates, permanganates, perchlorates, eau oxygénée concentrée) et les hypochlorites (eau de Javel concentrée). Les vapeurs sont irritantes pour les yeux et les voies respiratoires.

Exemples d'utilisation

En solution aqueuse à 70 % pendant 15 minutes (désinfection des surfaces, des pots et des rotors de centrifugeuses).

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. Ils ne sont jamais utilisés seuls, mais toujours en combinaison avec d'autres produits comme les aldéhydes.

Fiche 15 Désinfection/stérilisation

Les aldéhydes

Les aldéhydes détruisent facilement les bactéries, les champignons et les virus.

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.

Les aldéhydes sont commercialisés sous deux formes :

- Solution à 2 % de glutaraldéhyde,
- En mélange plus stable avec des détergents ou d'autres désinfectants.

Précautions à prendre

Leur action n'est pas sensible à la présence de protéines.

Les aldéhydes sont incompatibles avec les bases fortes ou les oxydants forts (permanganates, dichromates).

Ces produits se dégradent rapidement.

Ils sont fortement irritants pour les yeux, la peau et les voies respiratoires, même en solution diluée. Ce sont des allergisants essentiellement de type cutané (dermites de contact), mais aussi respiratoire (rhinite, asthme). Certains d'entre eux (formaldéhyde) sont susceptibles de provoquer le cancer.

Il est préconisé de préparer les solutions sous une sorbonne et de porter des gants et des lunettes.

Exemples d'utilisation

Matériel médical en métal ne supportant pas l'eau de Javel ou ne pouvant être autoclavé. Utiliser une solution à 2 % de glutaraldéhyde avec un temps de contact de 15 minutes à 2 heures minimum si l'on est en présence de spores.

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

DÉSINFECTANT	MICRO-ORGANISMES					
	BACTÉRIES GRAM +	BACTÉRIES GRAM -	MYCOBACTÉRIES	SPORES	CHAMPIGNONS ET LEVURES	VIRUS
Halogénés iodés	+++	+++	++	++	+++	+
Halogénés chlorés	+++	+++	+/-	+	++	+
Alcool	+++	+++	++	+/-	+/-	+/-
Aldéhydes	+++	+++	++	++	++	++
Ammoniums quaternaires	+++	+	+/-	+/-	+/-	+/-

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

La désinfection des locaux et des surfaces par voie aérienne

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 désinfection est vivement déconseillée.

La fumigation

Les principales applications sont la désinfection et la décontamination :

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

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

Le formaldéhyde étant susceptible de provoquer le cancer, le peroxyde d'hydrogène est un produit de substitution moins dangereux. Il est nécessaire de tester l'efficacité du peroxyde d'hydrogène suivant l'organisme pathogène à détruire.

Remarque

Une attention particulière doit être apportée aux préparations commerciales de désinfection de l'air (bombes aérosol) : leur efficacité doit être validée en interne. L'utilisation de préparations sans aldéhyde est vivement déconseillée car elles ont un spectre d'activité restreint.

La stérilisation

Chaleur humide (autoclaves)

La stérilisation par chaleur humide sous pression est actuellement la méthode la plus fiable, efficace et facile d'emploi. L'utilisation d'un autoclave est soumise à l'obtention d'une habilitation par le directeur d'unité, délivrée à la suite d'une formation.

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 stérilisateurs prévus

à cet effet, et ne peuvent être utilisés que par du personnel qualifié.

ATTENTION

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

Cas particulier des prions*

Les méthodes classiques de désinfection ne sont pas efficaces sur les prions.

Différents traitements sont proposés :

- Chimique
 - > Eau de Javel fraîchement diluée au ½ à partir de la solution à 2,6 % de chlore actif, à température ambiante, pendant 1 heure,
 - > Soude 1 N à température ambiante, pendant 1 heure.
- Thermique par 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.

* *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.*

Nature des déchets

- Solides, liquides, piquants/coupants.
- Putrescibles d'origine humaine, animale ou végétale.
- Pathogènes pour l'homme (groupes 2 à 4) et/ou pour l'environnement (OGM groupes 1 à 4).

Collecte

- Emballage identifié par le logo risque biologique, étanche, résistant, avec un système de fermeture et de préhension efficace et d'une capacité adaptée répondant aux normes suivantes :
 - > Sacs à déchets mous, norme NF X 30-501.
 - > Conteneurs rigides et emballages mixtes (carton avec sac interne), norme NF X 30-505.
 - > Conteneurs pour piquants/coupants, norme NF X 30-500.
- Obligation d'indiquer sur les emballages le nom et l'adresse du producteur.
- Compactage interdit.
- Transvasement à éviter.
- Regroupement possible des déchets pour réduire le temps d'élimination (voir les durées de stockage)
- Établissement d'un bordereau de suivi « Élimination des déchets d'activités de soins à risques infectieux » (CERFA n° 11351*03).

Stockage

Locaux

Les locaux de stockage doivent être conformes à l'arrêté du 7 septembre 1999 modifié relatif aux modalités d'entreposage des DASRI et assimilés et des pièces anatomiques.

Ils sont 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, une arrivée d'eau, des murs et un sol continus en 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 de stockage

Pour les déchets solides contaminés (pathogènes des groupes 2 à 4 et OGM des groupes 1 à 4), la durée entre la production effective des déchets et leur incinération ne doit pas excéder :

- 72 heures si la production est supérieure à 100 kg/semaine.
- 7 jours pour une production inférieure ou égale à 100 kg/semaine et supérieure à 15 kg/mois.
- 1 mois pour une production inférieure ou égale à 15 kg/mois et supérieure à 5 kg/mois.
- 3 mois si la production est inférieure à 5 kg/mois et/ou s'il s'agit de DASRI perforants.

Traitements

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

- Prétraitement : inactivation chimique (exemple : eau de javel) et/ou thermique (autoclave). Il faut valider l'efficacité de ces procédés.
- Traitement interne autorisé si le procédé de désinfection est homologué.
- Incinération dans un centre de traitement agréé (le plus courant).

Fiche 16 Déchets d'Activité de Soins à Risques Infectieux (DASRI) et assimilés

Filières d'élimination

Le choix de la filière dépend du type de déchets (voir les tableaux ci-dessous) :

- Crématorium.
- Établissement d'équarrissage.
- Déchets d'activités de soins à risques infectieux (DASRI).

- Déchets industriels banals (DIB).

Traçabilité de l'élimination des déchets

- Obligation de tenir à jour un registre chronologique de la production, de l'expédition, de la réception et du traitement des déchets dangereux.

- Le registre doit être conservé pendant au moins 3 ans.
- Le contenu du registre est défini par l'arrêté du 29 février 2012.
- Les bordereaux de suivi « Élimination des déchets d'activités de soins à risques infectieux » doivent être conservés pendant 5 ans.

Traitements et filières d'élimination des déchets biologiques

NATURE	PIQUANTS/ COUPANTS		MATÉRIEL DE LABORATOIRE, LITIÈRES D'ANIMAUX, DÉCHETS ANATOMIQUES NON RECONNAISSABLES D'ANIMAUX, LIQUIDES BIOLOGIQUES D'ORIGINE HUMAINE OU SIMIENNE, DÉCHETS LIQUIDES CONTAMINÉS PAR UN OGM					
	Non contaminés	Contaminés par OGM du groupe 1 et agents pathogènes (OGM ou non) de groupe 2 ou 3	Non contaminés	Contaminés par OGM du groupe 1*		Contaminés par OGM de groupe 2 ou 3*		Contaminés par agents pathogènes non OGM de groupe 2 ou 3 Pièces anatomiques non reconnaissables d'animaux infectés Liquides biologiques d'origine humaine ou simienne infectés ou non
Traitement interne	Sans objet	Inactivation thermique	Sans objet	Solides	Liquides	Solides	Liquides	
Filière d'élimination	DASRI	DASRI	DIB (Égout si liquide)	DIB (Égout si liquide)		DASRI		DASRI
Traitement interne	Sans objet	Inactivation thermique	Sans objet	Inactivation thermique	Inactivation chimique	Inactivation thermique	Inactivation chimique	Inactivation thermique ou chimique
Filière d'élimination	DASRI	DASRI	DIB (Égout si liquide)	DIB (Égout si liquide)		DASRI		DASRI

* Les litières et les déjections d'animaux, dépourvus d'OGM capables de se multiplier, peuvent être orientés directement vers la filière DIB.

** Selon les recommandations du Haut Conseil des Biotechnologies : annexe 5.1 du Manuel du HCB pour l'utilisation confiné d'OGM.

NATURE	DÉCHETS ANATOMIQUES HUMAINS		CADAVRES OU PIÈCES ANATOMIQUES FACILEMENT RECONNAISSABLES D'ANIMAUX INFECTÉS OU OGM	ANIMAUX SAINS OU PIÈCES ANATOMIQUES FACILEMENT RECONNAISSABLES	DÉCHETS LIQUIDES D'ORIGINE NON HUMAINE	
	Non reconnaissables	Facilement reconnaissables	Contaminés par OGM du groupe 1 et agents (OGM ou non) de groupe 2 ou 3	Non contaminés	Non contaminés	Contaminés par agents non OGM de groupe 2 ou 3
Traitement interne	Inactivation chimique ou thermique	Sans objet	Inactivation thermique Inactivation chimique	Sans objet	Sans objet	Inactivation chimique
Filière de traitement	DASRI	Crématorium	DASRI	Filières spécialisées ou service d'équarrissage	Égout	Égout

Accident exposant au sang ou à des produits biologiques (piqûres, coupures ou projections)

Conduite à tenir dans l'immédiat

- Nettoyer immédiatement la plaie à l'eau courante et au savon,
- Désinfecter la plaie par trempage avec un temps de contact d'au moins 5 minutes dans un dérivé chloré (Dakin) ou un dérivé iodé type polyvidone (à défaut, de l'alcool médical à 70°),
- En cas de projections sur les muqueuses (l'œil en particulier), rincer immédiatement pendant au moins 10 minutes au sérum physiologique ou avec de l'eau courante.

Ultérieurement

- Procéder rapidement à l'évaluation du risque infectieux en particulier pour VIH, VHB et VHC avec le médecin de prévention. Le risque d'exposition au VIH nécessite de contacter sans délai le médecin référent afin d'évaluer l'exigence de la mise en œuvre d'un traitement prophylactique. Un protocole rédigé avec le médecin de prévention doit être affiché dans les laboratoires à risques indiquant en particulier les coordonnées du médecin référent.
- Dans tous les cas, prévenir le médecin de prévention et déclarer l'accident (selon le type et le niveau de blessure, la déclaration en accident du travail n'est pas systématique mais une trace de l'incident doit en être conservée en cas de complication ultérieure).

Accident d'exposition aux eaux usées

Conduite à tenir dans l'immédiat (cf. ci-dessus)

Ultérieurement

- Vérifier la validité de la vaccination anti-tétanique: les intervalles des rappels de vaccination chez l'adulte sont de 20 ans entre 25 et 65 ans. Devant une plaie, il est recommandé d'administrer immédiatement le vaccin si la personne n'est pas à jour de ses vaccinations antérieures. Les plaies à risque élevé (en contact direct avec la terre, des débris telluriques ou végétaux, ou causées par des animaux), peuvent nécessiter, l'injection de gamma-globulines spécifiques en plus du rappel vaccinal.
- Le contact cutané ou muqueux d'une plaie ou d'une peau saine macérée par immersion prolongée dans une eau infectée par les urines de rongeurs doit faire craindre le risque de leptospirose. La survenue d'une fièvre élevée avec frissons, maux de tête, douleurs musculaires et articulaires diffuses, en moyenne 4 à 14 jours après l'exposition, doit faire rechercher systématiquement la maladie et conduire à la prescription d'un traitement antibiotique approprié. Pour les travaux exposants, les mesures de protection individuelle (gants, bottes ou cuissardes, lunettes de protection) sont à privilégier. Il existe un vaccin efficace dont l'indication est toujours posée de manière individuelle en fonction de l'évaluation du risque.

Morsure par un animal suspect

- Toute plaie provoquée par un mammifère sauvage suspect, en particulier dans un pays en voie de développement, doit faire craindre le risque de rage. Outre un nettoyage et une désinfection efficace de la plaie (cf. ci-dessus), il faut prendre contact au plus vite (dans les 24 premières heures) avec un centre anti-rabique afin de débiter une vaccination « thérapeutique ». En effet, une fois déclarée, la maladie est toujours mortelle. Toute personne missionnée à l'étranger, en particulier dans des conditions d'isolement sanitaire, doit consulter le médecin de prévention afin d'évaluer les indications d'une vaccination préventive et d'obtenir les coordonnées d'un centre antirabique dans le pays visité. Toute personne vaccinée doit bénéficier rapidement d'une injection de rappel après morsure suspecte.

➤ Toute plaie profonde doit bénéficier d'un examen médical spécialisé, à la recherche de lésions profondes et/ou de corps étranger.

Coordination nationale de prévention et de sécurité

1, place Aristide-Briand - 92195 Meudon Cedex

Tél. : 01 45 07 54 88

Mail : cnps@cnrs-dir.fr