



# Procédures Utilisation des laboratoires L2

N°	PROCEDURES	Personnes	page	
		concernées		
	PROCEDURES D'UTILISATION			
I-1	Entrée/sortie du personnel	Utilisateurs	2	
I-2	Utilisation d'un PSM de type II	Utilisateurs	3	
I-3	Elimination des déchets solides Biologiques	Utilisateurs	4	
I-4	Elimination des déchets solides Mixtes : Bio/Chim : Bio/Radio.	Utilisateurs	5	
I-5	Elimination des déchets liquides	Utilisateurs	6	
II	PROCEDURES DE GESTION			
II-1	Accueil	Responsable/chefs d'équipe	7	
II-2	Nettoyage d'un PSM	Utilisateurs	8	
II-3	Nettoyage du matériel	Utilisateurs	9	
II-4	Nettoyage du local	Entreprise extérieure	10	
II-5	Entretien du local : vaisselle, poubelles, paillasses	Utilisateurs	11	
III	PROCEDURES D'URGENCE		12	
III-1	Décontamination d'un Bain-marie	Utilisateurs	13	
III-2	Conduite à tenir en cas d'accident avec des produits biologiques	Tous	14	
III-3	Conduite à tenir en cas d'accident exposant au sang	Tous	15	
III-4	Conduite à tenir en cas de contamination sur soi	Tous	16	
III-5	Décontamination du sol/paillasse Utilisateurs			
IV	ANNEXES			
IV-1	Liste des décontaminants à utiliser		18 21	
IV-2	Consignes de sécurité à afficher dans le L2			
IV-3	Affichage sur la porte d'entrée du L2		22	
IV-4	Fiche d'accueil dans le L2		23	





# **Procédures**

## Utilisation des laboratoires L2

# Catégorie : risque biologique

I- Procédure d'utilisation

#### 1. ENTREE/SORTIE DU PERSONNEL

Cette procédure a pour objet de donner les consignes à suivre pour les entrées/sorties de laboratoire L2 pour : - le personnel du laboratoire

- le personnel de nettoyage, de maintenance et de contrôle

#### **ENTREE**

- 1. Enlever sa blouse et la laisser sur le porte-manteau extérieur
- 2. Vérifier le bon fonctionnement des ventilations à l'aide des indicateurs de pression
- 3. Entrer dans le sas
- 4. Fermer la porte extérieure du sas
- 5. Poser le matériel apporté sur la desserte réservée à cet effet
- 6. Mettre la blouse spécifique au L2
- 7. Mettre des sur-chausses
- 8. Attacher ses cheveux si ils sont longs
- 9. Se laver les mains
- 10. Se sécher les mains avec du papier à usage unique
- 11. Entrer dans le laboratoire L2
- 12. Fermer la porte intérieure du laboratoire L2
- 13. Mettre un masque FFP2 si le protocole utilisé le nécessite Mettre un masque chirurgical en cas de rhume
- 14. Mettre des gants.

#### **SORTIE**

- 1. La dernière personne quittant le labo L2 (ou pouvant être la dernière à quitter le labo) :
  - ⇒ vérifie :
  - La fermeture des PSM
  - L'arrêt des microscopes
  - L'arrêt des Bain-Marie.
  - ⇒ ferme les poubelles biologiques et réinstalle un nouveau sac
- 2. Enlever les gants, sur-chausses et masques. Les jeter dans la poubelle à risques biologiques jaunes
- 3. Entrer dans le sas
- 4. Fermer la porte du sas
- 5. Changer de blouse
- 6. Se laver les mains
- 7. Se sécher les mains avec du papier à usage unique que l'on jette après usage dans la poubelle jaune
- 8. Sortir du laboratoire L2
- 9. Fermer la porte extérieure du laboratoire L2





# Procédures Utilisation des laboratoires L2

# Catégorie : risque biologique l- Procédure d'utilisation

# 2. Utilisation d'un PSM de type II

- 1. Mettre en marche le poste et attendre l'arrêt de l'alarme.
- 2. Nettoyer le plan de travail avec du papier absorbant imbibé d'éthanol à 70°. Eviter l'eau de javel : toutes les qualités d'inox ne lui résistent pas. Eviter aussi les pulvérisations pour limiter les aérosols. Déposer les lingettes dans la poubelle balisée de déchets solides biologiques (jaunes)
- 3. Introduire le matériel nécessaire à la manipulation (flacons de milieu, produits de culture cellulaire, micropipettes ...) après son nettoyage à l'alcool. Ne pas entrer les paquets de Flacons, plaques, boîtes , tubes à centrifuger ...dans le PSM mais prélever hors du PSM la quantité nécessaire, et fermer le sachet avec du scotch
- 4. Ne pas placer du matériel sur la veine de garde et les grilles de reprise d'air latérales et du fond.
- 5. Si nécessaire, ouvrir les containers à pipettes Pasteur. Ne pas laisser le container en position verticale mais inclinée, l'extrémité du container, du côté ouverture, reposant sur le couvercle. L'autre solution est de travailler avec des pipettes Pasteur stériles (verre ou plastique) emballées individuellement ou par petite quantité (5-10)
- 6. En cours de manipulations, les pipettes Pasteur ou autres seront déposées, après usage, dans container contenant le décontaminant en usage dans le L2 (cf annexe 1).
- 7. Changer de gants toutes les 20 minutes
- 8. En cas d'éternuements, se détourner du PSM, si possible sortir du L2. Dans le cas d'éternuements ou de manipulation de mouchoir(s) : se laver les mains.
- 9. Tout déchet est mis dans les poubelles à déchets biologiques jaunes
- 10. Après chaque manipulateur,
  - Fermer les containers à pipettes Pasteur
  - Retirer du PSM : Flacons de milieu ou autre, poires, papiers, bouchons, pipettes usagées...
  - Rincer les tuyaux de la pompe d'abord avec le décontaminant en usage dans le L2 (cf annexe 1) puis avec de l'eau ou éthanol 70°
  - Laver le plan de travail avec du papier absorbant à l'eau, puis Ethanol 70 %
- 11. Ne peuvent rester sous le PSM en continu que:
  - Dispositif d'aide au pipetage (type Strippetor, PipetAid...), container à pipettes Pasteur, Micropipettes quand rangées sur portoir fixé à la paroi du PSM
  - 1 portoir pour tubes à centrifuger





## **Procédures**

## Utilisation des laboratoires L2

# Catégorie : risque biologique

I- Procédure d'utilisation

# 3. Elimination des déchets solides biologiques

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



- 1. Recueillir les aiguilles, lames de scalpel, cônes, pipettes Pasteur etc. dans le conteneur prévu à cet effet
- 2. Une fois ce dernier rempli, le fermer hermétiquement
- 3. Décontaminer extérieurement avant de déposer le conteneur hermétiquement clos, dans la poubelle balisée pour déchets solides biologiques jaunes
- 4. Mettre un nouveau container à la place de l'ancien

### 3.2 Traitement des pipettes

- 1. Déposer la pipette dans le récipient, destiné à cet usage, qui contient un fond de décontaminant (cf annexe 1). L'y laisser le temps d'incubation nécessaire au type de décontaminant utilisé. Si il est nécessaire de libérer le PSM avant le temps requis (souvent de ± 20 min), transférer vos pipettes dans un autre bac contenant ce même décontaminant.
- 2. Après décontamination, transférer les pipettes dans un carton « pipettes » sac jaune
- 3. Changer le décontaminant régulièrement

#### 3.3 Traitement des boîtes de Pétri, plaques, tubes et des flacons de culture

- 1. Sous PSM, pour chaque boîte, plaque, tube ou flacon, l'ouvrir
- 2. Recueillir par aspiration le liquide de culture dans le flacon de collecte
- Eliminer :
  - dans l'évier si le décontaminant utilisé est de l'eau de javel
  - dans un récipient pour déchets chimiques liquides en cas d'utilisation d'autres décontaminants (Voir annexe 1)
- 4. Décontaminer la boite ou le tube par addition de décontaminant (annexe 1). Laisser en contact le temps nécessaire
- 5. Eliminer le décontaminant à l'évier ou récipient chimique liquide (voir au-dessus) et déposer la boite ou tube dans la poubelle balisée pour déchets solides biologiques

#### 3.4 Autres : Gants, papiers...

Mettre ces éléments dans la poubelle balisée à déchets solides biologiques jaunes

#### 3.5 Sortie des poubelles

- 1. Une fois les poubelles solides remplies, les fermer
- 2. Porter la poubelle dans le GRV (benne) jaune ou violette situé à l'extérieur du L2





## **Procédures**

#### Version décembre 2007

## Utilisation des laboratoires L2

Catégorie : risque biologique I- Procédure d'utilisation

- 4. Elimination des déchets solides Mixtes : Bio/Chim : Bio/ Radio
- 4.1 Traitement des pipettes avec une contamination mixte chimique/biologique ou mixte radioactif/biologique
- 1. Déposer la pipette dans le récipient destiné à cet usage qui contient un fond de décontaminant adapté
- 2. Transfert des pipettes dans un carton de déchets chimique (sac bleu) ou radioactif
- <u>4.2 Traitement des boîtes de Pétri, plaques, tubes et des flacons de culture avec une</u> contamination mixte chimique/biologique ou mixte radioacitf/biologique
- 1. Sous PSM, pour chaque boîte, plaque, tube ou flacon, l'ouvrir
- 2. Recueillir par aspiration le liquide de culture dans le flacon de collecte, balisé et rempli de décontaminant
- 3. Eliminer dans un bidon.
- 4. Décontaminer la boite ou tube par le décontaminant en usage (annexe 1)
- 6. Eliminer le décontaminat :
  - eau de Javel dans évier
  - autre décontaminant : bidon déchets chimiques
- 7. Déposer la boite ou tube dans la poubelle balisée pour déchets solides

4.3 Autres: Gants, papiers...

Mettre dans une poubelle à déchets chimiques ou radioactifs

# 4.4 Sortie des poubelles

- 1. Une fois les poubelles solides remplies, les fermer
- 2. Porter la poubelle dans le GRV (benne) jaune ou violette situé à l'extérieur du L2





## **Procédures**

### Utilisation des laboratoires L2

# Catégorie : risque biologique

## I- Procédure d'utilisation

# 5. Elimination des déchets liquides

En fonction des activités menées dans le L2 où vous manipulez, vous devez vérifier la présence de poubelles spécifiques pour :

- déchets mixtes chimiques/biologiques : tous les L2
- déchets radioactifs en décroissance (32P, 33P, 35S): L2 radioactivité
- déchets radioactif de 3H : L2 radioactivité

En cas d'absence de ces 2 derniers types de poubelles, contactez votre PCR (Personne Compétente en Radioprotection).

- 5.1 Traitement des effluents liquides biologiques avec ou sans contaminants chimiques non radioactifs
- 1. Sous PSM, récupérer les effluents dans un récipient spécifique contenant le décontaminant en usage dans le L2 (annexe 1)
- 2. Eliminer:
- dans l'évier si vous êtes en présence de risque bio seul et que le décontaminant utilisé est de eau de Javel
- dans un bidon pour déchets chimiques rempli de solution désinfectante en usage au L2 dans tous les autres cas (annexe 1)
- 3. Lorsque le récipient est plein, le fermer hermétiquement
- 4. Le porter au lieu de ramassage
- $\underline{5.2}$  Traitement des effluents liquides radioactifs en décroissance (32P, 33P, 35S) : L2  $\underline{\text{radioactivit\'e}}$
- 1. Récupérer les effluents radioactifs dans un petit flacon
- 2. Le transvaser dans un bidon spécifique pour déchets radioactifs 3H, rempli de solution désinfectante en usage dans le L2 radioactivité (annexe 1)
- 3. Lorsque le récipient est plein, le fermer hermétiquement et prévenir la PCR
  - 5.3 Traitement des effluents liquides radioactifs de 3H : L2 radioactivité
- 1. Récupérer les effluents radioactifs dans un petit flacon
- 2. Le transvaser dans un bidon spécifique pour déchets radioactifs 3H, rempli de solution désinfectante en usage dans le L2 radioactivité (annexe 1)
- 3. Lorsque le récipient est plein, le fermer hermétiquement et prévenir la PCR.





# Procédures Utilisation des laboratoires L2

# Catégorie : risque biologique

II- Procédure de gestion

#### Accueil

Cette procédure a pour objet de donner les consignes pour remplir une feuille d'accueil biosécurité pour toute personne nouvellement affectée en local de confinement L2 quelque soit la durée de la mission.

Cette procédure est à charge du Responsable/Parrain qui accueille le nouvel entrant

- 1. Expliquer le niveau de confinement L2 (local à risque, éviter la dissémination dans l'environnement...) les agents biologiques pathogènes utilisés, les cellules ou échantillons biologiques manipulés. Décrire la nature (insert, vecteur, hôte) des OGM manipulés.
- 2. Décrire les équipements collectifs de prévention (local en dépression, PSM...)
- 3. Préciser les équipements de protection individuelle (blouse, combinaison, masque, lunettes, gants...). En cas de problèmes d'allergie avec le latex, prendre des gants en nitrile (modèle safeskin purple (disponible chez Kimberly Clark )). Le masque sera mis si le protocole le justifie pour la protection du manipulateur (Masque FFP2) ou des cultures (si enrhumé, par exemple) (Masque type « chirurgical »).
- 4. Préciser que, à cause du risque d'explosion des ampoules de cellules à la décongélation, le port d'un écran facial est nécessaire à la sortie de l'ampoule du container azote, et lors de son transfert au Bain-Marie. Préciser le lieu de stockage de la protectrion faciale
- 5. S'enquérir des formations antérieures relatives aux manipulations en zone de confinement et/ou de l'expérience individuelle acquise dans ce domaine.
- 6. Présenter les procédures d'utilisation du laboratoire en vue de familiarisation.
- 7. Assurer une formation interne propre aux opérations conduites dans le laboratoire.
- 8. Faire signer à la personne nouvellement accueillie la fiche d'accueil dans le L2
- 9. Inscrire la personne accueillie sur la liste des personnes autorisées à travailler dans le laboratoire affichée à la porte du L2





## **Procédures**

## Utilisation des laboratoires L2

# Catégorie : risque biologique

II- Procédure de gestion

## 2. Nettoyage d'un PSM

#### 2.1 Nettoyage de fin de semaine :

- 1. Munis de gants, sortir le petit matériel du plan de travail, matériel préalablement nettoyé avec le bon décontaminant (Annexe 1)
- 2. Arrêter le PSM, pour éviter que les papiers absorbants soient entraînés par la ventilation de l'appareil
- 3. Nettoyer le plan de travail avec le décontaminant en usage dans le L2 (annexe 1), en respectant une étape d'action d'un détergent si nécessaire (annexe 1). Eviter l'eau de javel : toutes les qualités d'inox ne lui résistent pas. Eviter aussi les pulvérisations pour limiter les aérosols. Déposer les lingettes dans la poubelle balisée de déchets solides biologiques (jaunes)
- 4. Soulever le plan de travail. Nettoyer le bac de rétention (en respectant le point 2) plus particulièrement au niveau de la veine de garde
- 5. Replacer le petit matériel dans le PSM, après passage à l'éthanol
- 6. Nettoyer vitre frontale, faces interne et externe du PSM
- 7. Tout déchet biologique est mis dans les poubelles à déchets biologiques jaunes

#### 2.2 Nettoyage complet de la zone de travail, minimum 2 fois par an:

- 1. Tous les PSM d'un même L2 seront faits dans la même matinée
- 2. S'équiper de gants en latex
- 3. Arrêter le PSM, pour éviter que les papiers absorbants soient entraînés par la ventilation de l'appareil.
- 4. Remonter au maximum la vitre frontale si l'appareil en est équipé ou enlever le panneau d'obturation frontal et soulever la vitre à vérins.
- 5. Laver le plan de travail comme décrit dans le paragraphe : « nettoyage de fin de semaine ». Déposer les lingettes dans le container de déchets solides biologiques.
- 6. Démonter le plan de travail.
- 7. Nettoyer et désinfecter le bac de rétention par utilisation de papier absorbant imbibé du désinfectant.
- 8. Nettoyer, désinfecter, toutes les surfaces internes du poste (parois, joints, ne pas oublier la face interne de la vitre...) en veillant à ne pas toucher la surface filtrante.
- 9. Repositionner le plan de travail. Le désinfecter à nouveau.
- 10. Remettre en marche le PSM. Laisser fonctionner le poste jusqu'à arrêt de l'alarme avant de pouvoir l'utiliser à nouveau.
- 11. Noter sur une fiche de suivi des opérations de nettoyage, la date et le nom de l'opérateur.





# Procédures Utilisation des laboratoires L2

# Catégorie : risque biologique II- Procédure de gestion

# 3. Nettoyage du matériel

	Action à mener	Fréquence	Personne
1. Centrifugeuses.	Nettoyage de l'intérieur de la cuve et du rotor	. Quand contamination . Minimum 2 fois/an (lors du nettoyage des PSM)	manipulateurs
2. Microscopes	Nettoyage support : Nettoyage des objectifs:	Après chaque utilisation  Chaque fin de semaine pour éviter contamination oculaire	manipulateurs
3. Frigo/congélateurs	Nettoyage/dégivrage	Minimum : 2 fois/an	manipulateurs
4. Bain-marie	Nettoyage/	Minimum : 1 fois/mois	manipulateurs
5. Incubateur	Nettoyage/	Minimum : 1 fois/mois	manipulateurs

## Protocole:

- 1. Mettre des gants latex
- 2. Arrêter et débrancher l'appareil
- 3. Dans le cas du bain-marie, vider l'eau du contenu de la cuve dans l'évier après décontamination si nécessaire
- 4. Nettoyer avec papier absorbant imbibé avec :
- éthanol pour les microscopes
- éthanol ou décontaminant en usage dans le L2 (Annexe 1) pour les autres appareils
- 5. Jeter les papiers absorbants dans la poubelle à déchets solides biologiques
- 6. Jeter les gants dans la poubelle pour déchets solides biologiques
- 7. Dans le cas du bain-marie, le remplir d'eau. Y ajouter un anti-bactérien pour éviter les contaminations (cf annexe 1)





## **Procédures**

## Utilisation des laboratoires L2

# Catégorie : risque biologique

II- Procédure de gestion

# 4. Nettoyage du local

Rappel du symbole du risque biologique :

#### 4.1 Matériel nécessaire :

- 1 Balai « réservoir » spécifique au L2
- Des "lingettes" à usage unique s'adaptant sur le balai
- Solution détergente/désinfectante spécifique au local à risque
- Blouse spécifique
- Gants en vinyl et en latex
- Charlotte

#### 4.2 Procédure :

## Avant d'entrer dans le L2 :

- 1) S'assurer auprès d'un responsable que vous pouvez entrer dans le L2
- 2) Enlever toute bague et boucle d'oreille portée sur soi.
- 3) Prendre le réservoir du balai-réservoir dans le sas
- 4) Préparer la solution détergente/désinfectante dans un récipient adapté prévu à cet effet. Respecter la dilution et le temps de préparation en fonction de la capacité du récipient.

#### Entrée dans le L2 :

- 5) Rentrer dans le sas avec les lingettes à usage unique et le bidon de solution à adapter sur le balai
- 6) Se laver les mains
- 7) Enfiler une première paire de gant en vinyl puis une deuxième paire de gant en latex.
- 8) Enfiler la blouse spécifique au local
- 9) Enfiler une charlotte

#### Nettoyage du local :

- 10) Désinfecter l'extérieur du balai
- 11) Jeter la lingette dans la poubelle à déchet biologique du sas
- 12) Mettre une lingette sur le balai
- 13) Appliquer le détergent /désinfectant sur le sol du sas. Changer de bandeau autant que nécessaire et mettre les lingettes usagés dans la poubelle à déchet biologique du sas
- 14) Appliquer le détergent /désinfectant sur le sol du L2 pendant que le sol du sas sèche. Changer de bandeau autant que nécessaire et mettre les lingettes usagés dans la poubelle à déchet biologique du sas

#### Sortie du L2:

- 15) Vider le réservoir du balai dans l'évier du sas
- 16) Enlever sa blouse
- 17) Enlever la charlotte
- 18) Enlever ses gants et les jeter dans la poubelle à déchet biologique du sas
- 19) Se laver les mains
- 20) Sortir du local







# **Procédures**

# **Utilisation des laboratoires L2**

# Catégorie : risque biologique II- Procédure de gestion

5. Entretien du local : vaisselle, poubelles, paillasses

	Action à mener	Fréquence	Personne
1. Verrerie	Enlever la vaisselle et les pipettes Remettre de l'eau avec décontaminant dans les bacs	quotidien	Personnel responsable de la laverie
2. Déchets	Eliminer les poubelles déchets banals, les poubelles biologiques	quotidien	Personnel responsable de la laverie ou manipulateurs
3. Lavabo/évier	Laver	hebdo	manipulateurs
4. Paillasse	Laver	hebdo	manipulateurs
5. Sols	Laver	hebdo	Société extrérieure
6. PSM/HFL/ETRAF	Voir procédureN°7	/2 mois	Les manipulateurs

## Procédures :

- 1. Lavage des sols : voir procédure II- 4
- 2. Lavage des éviers : produits détergents ordinaires
- 3. Lavage des paillasses : Détergent/décontaminant en 1 ou 2 étapes suivant le pouvoir des produits utilisés (décontaminant seul ou mixte : Détergent/décontaminant, (cf Annexe 1)





## **Procédures**

# **Utilisation des laboratoires L2**

## Version décembre 2007

# Catégorie : risque biologique

II- Procédure de gestion

## 7. Intervention d'entreprise extérieure

#### Procédures:

- 1. Décontaminer l'appareil qui va être vérifié/entretenu si celui-ci peut l'être potentiellement. (centrifugeuse, PSM, bain-marie...)
- 2. Assurez-vous du lavage des sols avant l'intervention
- 3. Assurez-vous du lavage des éviers avant l'intervention
- 4. Assurez-vous du lavage des paillasse avant l'intervention: Détergent/décontaminant en 1 ou 2 étapes suivant le pouvoir des produits utilisés (décontaminant seul ou mixte : Détergent/décontaminant, (cf Annexe 1)
- 5. Etablir un certificat de décontamination.
- 6. Le jour de l'intervention, assurez-vous qu'aucune manipulation n'a lieu.
- 7. Le jour de l'intervention, établissez un plan de prévention et un certificat de décontamination que vous remettrez à l'entreprise extérieure (vous en garderez une copie).
- 8. Faites accompagner le personnel de l'entreprise extérieure pendant toute la durée de son intervention





# Procédures Utilisation des laboratoires L2

Catégorie : risque biologique II- Procédure de gestion	
8. Certificat de décontamination	

Nom de(s) Entreprise(s):

demande l'intervention dans les locaux à risques suivants :

Date de	Local	Risque particulier :	Méthode de décontamination utilisée
l'intervention			

Certificat éta	ıbli par :		
Qualité :			
Date:			
Signature :			



**Procédures** 



### Version décembre 2007

# Utilisation des laboratoires L2

# Catégorie : risque biologique

III- Procédure d'urgence

- 1. Retirer les gants et la blouse si elle est contaminée et la disposer dans la poubelle à déchet biologique jaune
- 2. En cas de coupure, suivre les instructions « Conduite à tenir en cas d'accident avec du matériel biologique » affichée dans le laboratoire (Procédure d'urgence III-2 ou III-3)
- 3. Mettre des gants et une nouvelle blouse le as échéant

Mettre le décontaminant adpaté sous le PSM (voir annexe 1)

- 4. Absorber avec des papiers absorbants, imbibés de désinfectant, puis vaporiser du désinfectant sur la zone contaminée. Retirer les gants et jeter le tout dans la poubelle à déchets biologique jaune
- 5. En cas de bris de verre, mettre une paire de gant épaisse. Dans ce cas, ne pas hésiter à utiliser une pince pour ramasser le verre. Déposer le verre dans la poubelle à déchets biologique jaune. (Attention de ne pas percer le sac). Retirer les gants épais, les mettre dans la poubelle à déchets biologique jaune. Penser à décontaminer la pince, avant de la sortir du PSM
- 6. Vaporiser à nouveau du désinfectant sur la zone contaminée, puis absorber avec du papier absorbant en nettoyant de la périphérie vers le centre. Jeter le tout dans la poubelle à déchets biologique jaune. Recommencer l'opération une deuxième fois
- 7. Décontaminer tout le matériel sous le PSM, (y compris le désinfectant)
- 8. Enlever les gants souillés, et remettre une nouvelle paire de gants pour continuer à manipuler
- 9. A la fin de la manipulation procéder à un nettoyage complet du poste en utilisant la procédure décrite dans la procédure II-2 « NETTOYAGE D'UN PSM »
- 10. Signaler l'incident au responsable du laboratoire
- 11. Après analyse de risque en concertation avec le responsable du laboratoire, procéder aux éventuelles actions correctrices complémentaires, telles que : décontaminations supplémentaires suivi médical modification de procédures formations supplémentaires etc.
- 12. Noter l'incident dans le registre d'hygiène et de sécurité





# Procédures Utilisation des laboratoires L2

# Catégorie : risque biologique II- Procédure d'urgence

### 1. Décontamination d'un Bain-marie

- 1. Mettre des gants latex
- 2. Arrêter et débrancher le bain-Marie
- 3. Avertir le responsable du L2 pour évaluer le degré de risque en fonction des agents biologiques présents
- 4. En fonction de la résistance de l'agent biologique, utiliser l'une ou l'autre des méthode a) ou b)
- a) Mettre le décontaminant en usage dans le L2 et laisser agir. Eliminer à l'évier si l'eau de Javel a été utilisée, dans un container à déchets liquides chimiques si un autre décontaminant a été utilisé. Rincer et remettre en fonctionnement
- b) Aspirer le contenu de la cuve dans un récipient spécifique. Décontaminer par autoclavage ou par addition du décontaminant spécifique. Mettre en marche à la température minimum pour nettoyer la pompe. Laisser agir. Eliminer. Rincer et remettre en fonctionnement
- 5. Jeter les gants dans la poubelle pour déchets solides biologiques





## **Procédures**

#### Utilisation des laboratoires L2

# Catégorie : risque biologique

II- Procédure d'urgence

2. Conduite à tenir en cas d'accident avec des produits biologiques

Conduite à tenir

Santé & sécurité

# Accident avec du matériel biologique

# IMMÉDIATEMENT

#### EN CAS DE COUPURE OU PIQÛRE

- Laver aussitôt au savon liquide neutre ou au savon de Marseille pendant 3 minutes au moins.
- Rincer soigneusement.
- Désinfecter pendant 15 minutes au moins avec :
  - de l'alcool à 70°
  - ou de l'eau de Javel diluée au 7<sup>ème</sup> (ne pas confondre avec l'extrait de Javel), ou du Dakin stabilisé.
- Consulter aussitôt le médecin référent pour les risques VIH et/ou hépatites dans les 2 heures qui suivent (cf. procédures du site).

#### EN CAS DE PROJECTION SUR LA PEAU

- Laver aussitôt à l'eau courante ou avec la douche de sécurité à jet diffus pendant 15 minutes au moins.
- Consulter aussitôt le médecin référent pour les risques VIH et/ou hépatites dans les 2 heures qui suivent (cf. procédures du site).

#### EN CAS DE PROJECTION DANS L'ŒIL

- Laver aussitôt à l'eau courante pendant 15 minutes au moins, en écartant bien les paupières, tête inclinée et l'œil atteint positionné vers le bas (se faire aider par un collègue).
- Ne pas enlever les lentilles cornéennes.
- Ne pas neutraliser. Ne pas utiliser de collyre ou solutions oculaires.
- Consulter aussitôt le médecin référent pour les risques VIH et/ou hépatites dans les 2 heures qui suivent (cf. procédures du site).
- Consulter un ophtalmologiste en urgence.

#### DANS LES JOURS SUIVANTS

- → Consulter dans les 24 heures le médecin de prévention pour évaluer les risques et lui signaler tout symptôme survenant dans les jours suivant l'incident ou l'accident,
- Faire une déclaration d'accident du travail.
- Avertir le correspondant hygiène et sécurité et consigner l'incident ou l'accident dans le registre hygiène et sécurité.

  Notifier l'incident ou l'accident au médecin de prévention et à l'ingénieur hygiène
- et sécurité.

#### PRÉVENTION

- Manipuler les produits biologiques sous poste de sécurité micro-biologique (PSM de type II).

  Porter des lunettes de protection à coques latérales, des gants adaptés
- et une blouse fermée.

Bureau des conditions de travail

Inserm





# **Procédures**

### Utilisation des laboratoires L2

# Catégorie : risque biologique

II- Procédure d'urgence

# 3. Conduite à tenir en cas d'accident exposant au sang

#### Senté & sécurité

Conduite à tenir en cas

# d'Accident Exposant au Sang (AES) ou à des Produits Biologiques Humains

Sites de Lille

### Immédiatement

#### Piqûre, coupure, projection sur peau lésée :

- Ne pas faire saigner.
- Laver immédiatement à l'eau et au savon neutre pendant 5 minutes.
- Rincer.
- Désinfecter pendant 5 minutes au moins avec :
  - du Dakin stabilisé,
  - ou de l'eau de Javel diluée au 750 fr (ne pas confondre avec l'extrait de Javel),
  - ou à défaut de l'alcool à 70°.

#### Projection oculaire ou muqueuse :

Rincer abondamment au sérum physiologique ou à l'eau courante à faible pression pendant 10 minutes, en écartant bien les paupières, tête inclinée et l'œil atteint positionné vers le bas (se faire aider par un collègue).

## Dans l'heure qui suit

- Consulter d'urgence le MÉDECIN RÉFÉRENT dans l'neure qui suit afin d'évaluer le risque de contamination hépatites, HIV ou autre :
  - -CHRU de Lille, hôpital R.Salengro: 03 20 44 61 83
  - Centre hospitalier St Vincent: 03 20 87 48 22
  - •Centre hospitalier St Philibert de Lomme : 03 20 22 50 20
  - Centre hospitalier de Tourcoing, CISIH France Nord: 03 20 69 46 64
  - Centre hospitalier de Roubaix : 03 20 99 31 47
- Le médecin référent décidera de l'opportunité d'un traitement préventif et de sa réévaluation.

### Dans les 24 heures

- Faire établir un certificat médical initial d'accident du travail par le médecin consulté en urgence.
- S'assurer d'un témoin.
- Déclarer l'accident dans les 24 h : les démarches à entreprendre vous seront indiquées par le secrétariat de l'unité ou de l'ADR 7 Lille (03 20 29 86 79).
- Faire noter l'accident sur le registre d'hygiène et de sécurité.
- Notifier rapidement l'accident au médecin de prévention, Dr Catherine LEMELLE, 03 28 52 06 27, pour enquête, suivi clinique et biologique.

En cas d'absence de celui-ci, contacter la coordination médicale au siège de l'Inserm, 01 44 23 62 83.

# En cas d'urgence médicale grave

Appeler le 15

Burasu da operdination de la médeans de prévandon Inserm

www.chemetiques.





# Procédures Utilisation des laboratoires L2

# Catégorie : risque biologique

II- Procédure d'urgence

#### 4. Conduite à tenir en cas de contamination sur soi

- 1. Retirer la blouse et la mettre la dans la poubelle à déchets biologiques
- 2. Enlever les gants si ceux que vous portez sont contaminés et mettez les dans la poubelle à déchets biologiques
- 3. En cas de coupure, suivre les instructions « Conduite à tenir en cas d'accident avec du matériel biologique » affichée dans le laboratoire (Procédure d'urgence III-2 ou III-3)
- 4. Si les vêtements sont contaminés, décontaminer avec le désinfectant d'usage en fonction de l'agent biologique. En cas de travail sur une solution virale ou culture primaire humaine, faire tremper dans la solution décontaminante
- 5. En cas de contamination au sol ou sous le PSM, se référer aux procédures correspondantes : II-2 ; II-4
- 6. Identifier ce qui a été renversé : souche, concentration, volume...
- 7. Signaler l'incident au responsable du L2 et au correspondant hygiène et sécurité. Indiquer l'incident dans le registre Hygiène et Sécurité
- 8. Faire une déclaration d'accident de travail si il y a eu blessure, coupure, projection dans l'œil....
- 9. Dans les cas de risque de contamination grave (manipulation virale, sang, tissus humains et cultures primaires...), un suivi médical pourra être programmé avec le médecin de prévention





## **Procédures**

## Utilisation des laboratoires L2

# Catégorie : risque biologique

II- Procédure d'urgence

## 5. Décontamination du sol/paillasse

- 1. Retirer la blouse si elle est contaminée, la déposer dans la poubelle à déchet biologique jaune
- 2. En cas de coupure, suivre les instructions « Conduite à tenir en cas d'accident avec du matériel biologique » affichée dans le laboratoire (Procédure d'urgence III-2 ou III-3)
- 3. Décontaminer éventuellement les chaussures et le bas du pantalon avec le désinfectant d'usage dans le laboratoire (voir annexe 1)
- 4. Mettre une blouse
- 5. Mettre des gants, des lunettes et selon le risque encouru, un masque FFP2
- 6. Délimiter largement la surface contaminée par du papier absorbant. Ne jamais utiliser d'éponge
- 7. Imprégner de désinfectant des papiers absorbants. Recouvrir le liquide biologique avec les papiers absorbant. Laisser absorber
- 8. Informer les personnes présentes dans le laboratoire au plus tôt. Décider si une évacuation est préférable ou pas (ex : si liquide renversé devant la porte de sortie du laboratoire)
- 10. Afficher un panneau "DANGER / CONTAMINATION BIOLOGIQUE " à l'extérieur de toutes les portes d'accès au laboratoire
- 11. S'éloigner du lieu de renversement 30 minutes avant de commencer à nettoyer :
  - Si vous sortez du laboratoire, retirez les gants, la blouse et éventuellement les surchausses ou les surbottes et les déposer dans la poubelle de déchets biologiques
  - Identifier ce qui a été renversé : souche, concentration, volume...
  - Signaler l'incident au responsable du laboratoire
- 12. Remettre une blouse, s'équiper d'une double paire de gants : Une 2eme paire soit à usage unique, soit de protection contre les débris de verre. Enfiler des surchausses
- 13. Approcher la poubelle de déchets biologiques du lieu de l'incident et retirer le couvercle
- 14. S'équiper de des lunettes et selon le risque encouru, un masque FFP2
- 15. Retirer les papiers absorbants imbibés du liquide biologique : déposer tous les déchets contaminés (papiers souillés, débris de verre...) dans la poubelle de déchets biologiques jaunes
- 16. En cas de bris de verre, ne pas hésiter à utiliser une pince pour ramasser le verre. Déposer le verre dans la poubelle à déchets biologique jaune (Attention de ne pas percer le sac). Retirer les gants épais, les mettre dans la poubelle à déchets biologique jaune. Penser à décontaminer la pince, avant de la sortir du PSM
- 17. Imprégner du papier absorbant avec le désinfectant (voir annexe 1), absorber le restant de liquide biologique
- 18. Nettoyer la zone contaminée avec du papier absorbant imprégné de désinfectant en partant de la périphérie vers le centre
- 19. Retirer les papiers de délimitation. Changer de gants
- 20. Nettoyer la zone une deuxième fois
- 21. Décontaminer tout matériel ayant été éclaboussé par le liquide biologique
- 22. Retirer la blouse, les gants, les surchausses et les lunettes
- 23. Fermer le couvercle de la poubelle de déchets biologiques, vaporiser l'extérieur avec le désinfectant d'usage avant de le sortir du laboratoire
- 24. Après analyse de risque en concertation avec le responsable du laboratoire, procéder aux éventuelles actions correctrices complémentaires, telles que : décontaminations supplémentaires suivi médical modification de procédures formations supplémentaires etc.
- 25. Noter l'incident dans le registre d'hygiène et de sécurit





# Procédures Utilisation des laboratoires L2

# Catégorie : risque biologique

**IV- Annexes** 

# 1. Liste des décontaminants à utiliser

L'utilisation des décontaminants sans action détergente, doit se faire après utilisation d'un détergent L'utilisation d'un détergent ou désinfectant se fait en partant de la périphérie vers le centre.

L2 Localisation	Produit	Action détergente	A utiliser sur	Concentration	Temps de contact
<b>Equipe 1</b> (Bat Biserte – L. Buée)	Ethanol 70°	Non	Surfaces : PSM, paillases		Ne pas rincer
L2 cellules en lignées continues et	Eau Javel	Non	produits biologiques liquides ou solides	Dilution au 1/10 7 d'une solution à 2,6%	20 minutes minimum
non infectées Pièce 2080 future L2 Viro Pièce 2040	Surfanios	Oui	Paillasses Plan PSM Incubateurs	2,5 ml/ litre d'eau Renouveler toutes les 8 h	15 min minimum
	Biocidal ZF spray (Biovalley)		incubateurs	Pret à l'emploi	Ne pas rincer
	Prothermal (Lucerna)	Non mais inhibe dépot de Ca et métaux lourds	Eau des incubateurs et Bain-Marie	2-3 ml Prothermal/ litre d'eau jusqu'à 3 mois (vérifier l'indicateur coloré bleu)	111111111111111111111111111111111111111
				///////////////////////////////////////	///////////////////////////////////////

L2 Localisation	Produit	Action détergente	A utiliser sur	Concentration	Temps de contact
Equipe 2 (Bât. Biserte- V. Prevot)	Ethanol 70°	Non	Surfaces : PSM, paillasses		Ne pas rincer
L2 culture primaire et dissection cerveaux	Eau Javel	Non	Produits biologiques liquides ou solides	Dilution au 1/10 d'une solution à 9°	20 minutes minimum
Pièce 1100	Surfanios	Oui	Paillasses, PSM, incubateurs	Dilution au 0,25%	Ne pas rincer
	Prothermal (Lucerna)	Non	Eau des incubateurs, Bain-Marie	2-3 cc/litre eau valable 3 mois (vérifier l'indicateur coloré bleu)	





# Procédures Utilisation des laboratoires L2

L2 Localisation	Produit	Action détergente	A utiliser sur	Concentration	Temps de contact
Equipe 3 (IRCL- B Quesnel)	Aniospray SF (Anios)	non	Surfaces	Spray prêt à l'emploi (30 à 40 ml par mm²)	Temps de contact non défini car pas de rinçage
L2 bactério L2 Viro L2 cellules en lignées continues et non infectées	Hexanios G+R (Anios)	Oui	Matériel, produits biologiques liquides ou solides	Dilution à 0,5 % soit 25 mL pour 5 L	15 minutes (renouvelleme nt du bain de trempage au moins une fois par jour) jetable à évier
	rien	///////////////////////////////////////	Eau des incubateurs		///////////////////////////////////////
	rien	///////////////////////////////////////	Eau des Bain -Marie		
	Argos mains	Oui	Mains	prêt à l'emploi	///////////////////////////////////////

L2 Localisation	Produit	Action détergente	A utiliser sur	Concentration	Temps de contact
Equipe 4 (Fac. Médecine- P. Formstecher)	Ethanol 70°	Non	Surfaces : PSM, paillases		Ne pas rincer
L2 cellules en lignées	Eau Javel	Non	Produits biologiques liquide ou solides	3 g Cl actif/10 l H <sub>2</sub> O (soit 2 pastilles)	20 minutes
continues et non infectées	Anios spray	Non	Surfaces	Spray Pret à l'emploi	5 à 10 minutes
	Cetavlon 20 %	Oui	incubateurs	Dilution au 1/10ème	Pas de rinçage
	Biocidal ZF spray (Biovalley)	Non	Incubateurs et surfaces	Pret à l'emploi	Pas de rinçage
	Cétavlon		Eau des incubateurs	Dilution au 1/10 <sup>ème</sup> dans l'eau de la cuve	///////////////////////////////////////
	Aqual Stabil (Julabo) VWR		Eau des Bain-Marie	1 cc/ litre eau vlable jusqu'à 3 mois (vérifier l'indicateur coloré bleu)	
	Argos mains	OUI	Mains	///////////////////////////////////////	///////////////////////////////////////





# **Procédures**

# **Utilisation des laboratoires L2**

L2 Localisation	Produit	Action détergente	A utiliser sur	Concentration	Temps de contact
Equipe 5 (Bât. Biserte - N. Porchet)	Ethanol 70°	Non	Surfaces : PSM, paillases		Ne pas rincer
L2 cellules en lignées continues et non	Eau Javel	Oui	produits biologiques liquides ou solides	Dilution au 1/10 d'une solution à 9°	20 minutes
infectées (Pièce 2500-	Anios spray	Non		Pret à l'emploi	
2510) L2 cellules humaines du	Cetavlon 20 %	Oui	incubateurs	Dilution au 1/10ème	Rinçage
tube digestif en culture primaire et lignées	Biocidal ZF spray (Biovalley)	Oui	incubateurs	Pret à l'emploi	Rinçage
continues non infectées (Pièce 1520)	Acryl Aquaclean (Biovalley	Oui	Eau des Bain-Marie	2cc/ litre d'eau	
	Septivon		Eau des incubateurs	2 cc/ litre d'eau	///////////////////////////////////////

Rq : Ce point sera à modifier après prise de décisions du comité de direction et du conseil de centre sur le Travail isolé





# Procédures

## Utilisation des laboratoires L2

# Catégorie : risque biologique

**IV- Annexes** 

## 2. Consignes de sécurité à afficher dans le L2

- 1) Quand on vient travailler le week-end :
  - Soit venir travailler minimum à 2
- Soit prévenir le parrain ou le responsable de l'équipe, la veille. Et le jour même, le prévenir, par téléphone ou sms, de son arrivée et de la durée estimée du temps de travail. Le prévenir de son départ par téléphone ou sms
- 2) Respecter les procédures propres au L2
- 3) Porter une blouse fermée, des gants et si nécessaire des lunettes de sécurité et/ou un masque. Les blouses seront changées toutes les semaines ou une semaine sur deux si fréquentation faible du laboratoire
- 4) Respecter l'organisation du laboratoire. Eviter d'encombrer les paillasses et les zones de circulations lors des manipulations
- 5) Ne pas utiliser de verrerie ébréchée.
- 6) Ne jamais recapuchonner une aiguille. La jeter dans une boîte à aiguille
- 7) Le pipetage à la bouche est interdit. Utiliser des systèmes mécaniques de pipetage
- 8) Manipuler de manière à minimiser la création d'aérosols
- 9) Ne pas fumer, boire, manger, se maquiller ou entreposer des aliments dans le laboratoire
- 10) Ne pas toucher des objets collectifs avec des gants contaminés (poignées de porte...)
- 11) Décontaminer les surfaces de travail chaque jour ou après renversement de matériel biologique. Utiliser du papier absorbant à usage unique
- 12) Les déchets biologiques solides ou liquides contaminés doivent être inactivés avant élimination

Remarque : Tout problème de contamination, de panne ou de dysfonctionnement quelconque au niveau du laboratoire doit être impérativement signalé au responsable du laboratoire ou, en cas d'absence, à l'un de ses suppléants.





# **Procédures**

# **Utilisation des laboratoires L2**

Catégorie : risque biologique

IV- Annexes

# 3. Affichage sur la porte d'entrée du L2

RESPONSABLE(S) DU LABORATOIRE :

1- Tel: 2- Tel:

LISTE DES PERSONNES AUTORISEES A UTILISER LE L2

(Feuille Biosécurité remise au responsable administratif du Centre)

NOM	Parrain

### En cas d'accident :

- 1) Respecter les « Conduites à tenir » affichées dans le laboratoire (« accident avec du matériel biologique, brûlure...)
- 2) Prévenir le responsable du laboratoire et le cas échéant, le Correspondant Hygiène et Sécurité
- 3) Faire une déclaration d'accident de travail
- 4) Dans tous les cas, relater l'accident dans le registre hygiène et Sécurité

#### **NUMEROS DE TELEPHONE A CONNAITRE**

Correspondant Hygiène et Sécurité : Tel :

Médecin de prévention Inserm Dr LEMELLE Tel : 03.28.52.06.27 Service Hygiène et Sécurité : OLIVIER Pascal Tel : 03.20.29.86.74





# Procédures Utilisation des laboratoires L2

Catégorie	:	risque	biologique
1\	7	Anney	AC

# 4. Fiche d'accueil dans le L2

Nom:			Equ	Equipe :					
Prénom :				Localisation du/des L2 utilisé(s) :					
						200anoation dayage 22 atmos(e).			
01-1-1				Chr	Chargé de l'accueil :				
	Statut :				Cita	arge de l'accue			
	Mission du	aı	u		Par	rains :			
				l l					
1	Risques biological	ogiques présen	ts dans le labo	ratoire					
	Bactéries path	nogènes			le	lesquelles :			
	Champignons pathogènes				le	lesquels :			
	Cultures cellul	aires			le	lesquelles :			
	Fahantillana h	iologiquos			le le	la a sura la v			
	Echantillons b	lologiques			IE	lesquels :			
	OGM				n	nature :			
2	Equipements de « bio » protection collectifs				٧	Ventilation / PSM.			
3	Movens de pro	ntections individ	luels		Т	ype de blouse :			
	Moyens de protections individuels		Т	Type de gants :					
4	Formation				1	ype de PSM :			
ſ									
	- Formation bios	écurité antérie	ure		0	oui □ laquelle :	nc	on 🗆	
	- Expérience ant	térieure en labo	oratoire de con	finement.	0	oui 🗆 laquelle :	nc	on 🗆	
5	Familiarisation	aux procédure	s spécifiques a	 au	E	ffectué □			
	laboratoire et co								





# Procédures Utilisation des laboratoires L2

### DATE D'ACCUEIL:

	PERSONNE ACCUEILLIE	CHARGE DE L'ACCUEIL
NOM		
SIGNATURE		

CETTE FEUILLE REMPLIE ET SIGNEE EST A RETOURNER AU RESPONABLE ADMINISTRATIF DU CENTRE