

| |
|--|
| LABORATOIRE DE CONFINEMENT DE TYPE L3 DU CENTRE IRD DE MONTPELLIER REGLEMENT ET CONSIGNES |
|--|

Public concerné : Responsables d'équipes et utilisateurs de la zone.

Rédacteur et date de rédaction ou de modification : Thierry MATHIEU – juin 2005

Référence : Commission du Génie Génétique ou C.G.G. (<http://www.recherche.gouv.fr/commis/genetique/default.htm>).

Le présent règlement sera soumis à tout utilisateur par le responsable scientifique de la zone.

La signature du « Registre des expériences » tenu par ce même responsable vaut acceptation des règles énumérées ci-dessous.

I – Les responsables et leurs attributions :

Deux domaines de responsabilités :

- **Responsabilité technique** . Elle est assurée par un cadre représentant la direction du centre et nommé par elle. Les installations techniques et leur bon fonctionnement relèvent de sa compétence. Il est chargé de l'encadrement des entreprises prestataires de services et des intervenants techniques extérieurs.
- **Responsabilité scientifique** . Elle est assurée par un cadre scientifique (chercheur, ingénieur) volontaire et nommé par le chef de centre. La tenue d'un « Registre des expériences » (document de contrôle par la CGG), la gestion d'un programme d'exploitation de la zone afin d'en optimiser l'occupation, l'information des utilisateurs et leur formation, ainsi que le contrôle des expérimentations relèvent de sa compétence et en font l'interlocuteur privilégié des expérimentateurs.

Les noms et coordonnées des responsables et de leurs suppléants sont affichés par leurs soins à l'entrée des locaux L3. Ainsi que le présent règlement et toute signalétique liée aux bonnes pratiques en vigueur dans la zone.

Ils sont en outre chargés de tenir à disposition des utilisateurs tous les consommables nécessaires au bon fonctionnement de la zone (vêtements de protection, produits de nettoyage et de désinfection, ...).

II – Rappels réglementaires et techniques :

III – Destination du laboratoire :

Le laboratoire permet de mener des expérimentations végétales de 2 types :

- Travaux portant sur des organismes génétiquement modifiés (plantes ou micro-organismes classés Ep2 et Ep3).
- Travaux portant sur des maladies ou des parasites de végétaux.

Seuls les personnels disposant d'un agrément de la CGG et autorisés par les responsables scientifique et technique ont accès au laboratoire. Cet accès est limité à la durée d'utilisation contractuelle d'une chambre de culture.

II2 – Aménagement du laboratoire :

Le laboratoire L3 est situé dans la zone 9 (serres tropicales) du centre. Il est contigu à la zone de confinement S2. Il est constitué d'un sas de 5 m² (L97), d'une partie laboratoire de 40 m² (L97) et de 3 chambres de culture (CC 91, CC92 et CC 93) comptant au total 35 m² utiles.

Conformément aux recommandations de la CGG, le laboratoire a les caractéristiques suivantes :

- Affichage à l'entrée du laboratoire du niveau de confinement, du pictogramme « danger biologique », des noms des responsables (scientifique et technique) et des présents règlement et protocoles. Signalétique réglementaire.
- Accès verrouillable au laboratoire par un sas en surpression aménagé de vestiaires et d'une douche de décontamination.
- Filtration absolue de l'air introduit et extrait.
- Local et fenêtres étanches.

- Maintien en dépression de la zone L3. Affichage par les déprimomètres à eau installés aux différentes entrées et reliés par capteur analogique au système d'alarmes techniques du centre.
- Généralisation des surfaces lisses, résistantes et facilement accessibles au nettoyage (murs, sols et paillasse).
- Présence d'un oculus permettant l'observation de la quasi-totalité de la zone.
- Présence d'un système de cuves de chloration permettant l'inactivation de tous les effluents de la zone.

II3 – Equipements du laboratoire :

- Présence d'un autoclave double entrée. Portes asservies pour éviter leur ouverture simultanée.
- Présence de moyens de communication avec l'extérieur (Téléphones, réseau intranet du centre).

II4 – Caractéristiques techniques des chambres de culture :

- **Surface utile** : Au total 35 m² utiles répartis sur 30 plateaux inox mobiles.
 - CC 91 et 92 : 12 plateaux soit 14 m² utiles chacune.
 - CC 93 : 6 plateaux soit 7 m² utiles.
- **Plage de température couverte** : entre 15°C et 35°C à 0,10°C près.
- **Plage d'hygrométrie couverte** : de l'hygrométrie ambiante à la saturation. Production par humidificateur à ultrasons, taille des gouttelettes de 2µ à 5µ.
- **Lumière** : Au total 240 néons et 12 lampes à décharge. Allumage par tranche de 33%.
 - CC 91 et 92 : 4 x 30 néons, type « lumière du jour » (36W / tube) sur 2 x 2 niveaux.
 - CC 93 : 2 x 6 lampes à décharge, type HPS. (400W / lampe)
- **Gestion informatique** : Modules de pilotage indépendants pour chaque cellule. Ecran tactile. Réglage simple des consignes de température, d'humidité et de photopériode.

II5 – Coûts liés à l'utilisation des locaux L3 :

- **Unité de base indivisible** : 1 chambre de culture. Coût lié à la fourniture des fluides de fonctionnement.
- **Durée de location** : fixée par l'utilisateur. Peut-être modifiée dans la mesure des disponibilités.
- **Prestations comprises** : utilisation de la partie laboratoire (paillasse et équipements), autoclavage des déchets, remplacement et achat des luminaires par le responsable technique, entretien technique général, télésurveillance, astreintes.
- **Prestations en sus** : achat de consommables communs ou dédiés aux expérimentations.
- **Interlocuteurs** : Centre IRD pour la location forfaitaire ; Responsable scientifique pour les consommables.

Les coûts de location sont fixés par la direction du centre et sont révisables. Les demander aux responsables.

III – Bonnes pratiques générales :

- Connaître les consignes de sécurité et la conduite à tenir en cas d'accident.
- Ne pas boire, manger, fumer ou se maquiller et ne rien porter à la bouche (pipettes, stylos...).
- Ne pas travailler seul.
- Remplir le « cahier de visites L3 » à chaque passage.
- Afficher la nature et l'objet de la culture de plantes sur la porte de la cellule de culture.
- Porter obligatoirement un vêtement de protection. Disponible dans le sas, il doit y demeurer.
- Porter des gants en latex jetables pour toute manipulation de plante, maladie ou parasites.
- Se laver les mains avant et après manipulation et en tout état de cause avant la sortie des locaux.
- Désinfecter systématiquement les plans de travail et le matériel de culture avant et après manipulation.
- Utiliser du matériel à usage unique dans la mesure du possible.
- Jeter tous les déchets (matériels, plantes et substrats) dans les sacs « Biohazard » appropriés. Les stocker à l'endroit indiqué pour autoclavage en prenant soin de les fermer.
- Interdictions d'accès aux visiteurs ou aux personnes non autorisées.

PROTOCOLE D'UTILISATION DU LABORATOIRE L3 ET DES CHAMBRES DE CULTURES

I – Généralités :

- Les utilisateurs sont entièrement responsables de la conduite de leurs expérimentations et de leurs cultures.
- Le nombre d'expérimentateurs est limité à deux par expérimentation.
- L'accord pour mener l'expérimentation prévue est donné en fonction des éléments fournis par l'expérimentateur sur sa « fiche d'expérimentation » et des disponibilités de temps et d'espace de la zone.
- Les utilisateurs s'engagent sur des dates fixes d'occupation qui comprennent la durée de la manipulation ainsi que l'évacuation des déchets, le nettoyage et la désinfection de la cellule occupée.
- L'autorisation d'accès est accordée pour la durée de location et uniquement pour cette période.
- Pour des contraintes techniques, une cellule de culture n'est pas utilisable pour plusieurs expérimentations ayant des exigences climatiques ou photopériodiques différentes.
- Le réglage des chambres de culture est uniquement effectué par les responsables scientifique et technique en début de culture. Toute modification sera faite par eux et les boîtiers de programmation fermés à clés.
- L'introduction de matériel végétal ne peut se faire que sous la forme de graines et de vitro-plants.
- Toute autre introduction de plantes en végétation est à proscrire pour des raisons phytosanitaires.
- Il est recommandé de n'introduire qu'un minimum de matériels dans le laboratoire.
- Avant sa sortie, tout matériel biologique (plantes et agents pathogènes) et tout déchet (substrats, matériel de culture jetable, déchets de laboratoire, vêtements trop abîmés...) doit être mis dans des sacs dédiés et autoclavé.

II – Demande d'accès à la zone :

- **Retirer et remplir une fiche d'expérimentation** auprès du responsable scientifique (ses noms et coordonnées sont affichés à l'entrée du sas).
- **Lire attentivement les présents règlement et protocoles** remis par le responsable scientifique.
- **Signer la fiche d'expérimentation.** Cette signature vaut acceptation pleine et entière des règles en vigueur dans la zone L3. Elle sera ensuite signée par le responsable scientifique, et le chef de centre. Une copie de cette fiche doit être apposée sur la porte d'entrée de la chambre de culture et l'original est conservé par le responsable scientifique. Ces fiches constituent le « Registre des expériences ».
- **Retenir le code d'accès** donné par le responsable scientifique. Il ne doit en aucun cas être communiqué à des tiers. Seules les personnes dont le nom figure sur le « Registre des expériences » ont le droit d'accès aux locaux L3. Le code sera changé tous les 6 mois par le responsable technique en concertation avec le responsable scientifique.

III – Entrée et sortie en zone de confinement de niveau 3 :

III1 – Horaires :

Les horaires d'accès à la zone confinée L3 dépendent des heures d'ouverture et de fermeture du Centre.

Extrait du règlement intérieur du centre :

« Horaires d'ouverture et de fermeture du Centre :

Du lundi au vendredi de 7h00 à 20h30 - Le samedi de 7h00 à 12h00

En dehors des horaires d'ouverture du Centre, seuls les personnels de sujétion ou d'astreinte ont accès au Centre. Les personnels participant à des activités en cours, non reportables, peuvent demander une autorisation d'accès.

Ces autorisations demandées sous la responsabilité du Directeur d'unité et de service sont nominatives, non permanentes et doivent être visées par le Directeur du Centre. »

III2 – Conditions d'accès :

L'entrée en zone de confinement L3 est interdite en cas de visite préalable dans un lieu à risque phytosanitaire (serres, champ...). Dans la zone des serres tropicales du centre, le sens de visite s'organise du plus confiné au moins confiné (L3 puis S2 et enfin serres conventionnelles).

Entrée :

- Remplir le « Cahier de visites » situé à l'entrée du sas S2 en précisant la destination « L3 ».

- Revêtir blouse et surchaussures dans le sas S2 puis se désinfecter les mains.
- Remplir le « Cahier de visites » situé à l'entrée du sas L3.
- Quitter blouse et surchaussures dans le sas L3 et revêtir la combinaison dédiée au L3 ainsi que des gants.

Sortie :

- Jeter les gants usagés dans un sac destiné à l'autoclavage.
- Se laver les mains.
- Quitter la combinaison dédiée au L3 et la ranger dans le vestiaire (elle est jetable mais non à usage unique).
- Revêtir la blouse et les surchaussures préalablement laissées dans le sas.
- Remplir le « cahier de visites » du sas L3.

IV – Les déchets :

Tous les déchets et effluents produits en zone de confinement de niveau 3 doivent être neutralisés.

- Nature : solides, liquides, putrescibles, pathogènes pour l'environnement (OGM des classes 1 à 4 et groupe E).
- Collecte : emballages identifiés (logo risque biologique) et réseau d'évacuation et de collecte des liquides.
- Procédé utilisé : Autoclavage (stérilisation par chaleur humide sous pression) pour les solides.
Chloration (inactivation chimique) pour les liquides.
- Stockage : les utilisateurs placent les sacs fermés par un nœud près de l'autoclave.
- Stérilisation / Inactivation : la manipulation de l'autoclave est limitée par un code personnel aux personnes autorisées dont les noms figurent près de l'appareil. Les cycles sont lancés pendant les heures de service et l'utilisateur qui est à l'origine d'un cycle doit constater que celui-ci est terminé avant de quitter le centre. La chloration des cuves de collecte des liquides est assurée par l'équipe technique des serres.
- Evacuation : la personne qui a lancé un cycle de stérilisation doit vider l'autoclave et placer les sacs stérilisés en bacs roulants situés dans le local mitoyen pour évacuation.

V – Entretien des locaux, hygiène :

Le nettoyage général du local (sols et paillasses) est à la charge des utilisateurs. Cela comprend le sas, le laboratoire et la chambre de culture qui leur a été affectée.

Si plusieurs équipes occupent les locaux, il leur appartient de s'organiser pour effectuer l'entretien à tour de rôle.

En fin d'expérimentation la cellule de culture doit impérativement être restituée propre et désinfectée. La désinfection s'effectue grâce à un produit fongicide, bactéricide et virucide.

Le matériel nécessaire à l'entretien est disponible dans la zone (centrale de nettoyage, raclette à sols, produits désinfectants). Se conformer aux protocoles affichés.

VI – Maintenance, entretien et surveillance :

Une grande partie des installations techniques nécessaires au bon fonctionnement des locaux se trouvent à l'extérieur. Elles ne nécessitent donc pas l'entrée d'intervenants extérieurs en zone confinée.

Si toutefois une intervention nécessite l'entrée dans la zone L3, le prestataire doit se conformer aux présents règlements et procédures. Il sera obligatoirement accompagné d'un responsable (scientifique ou technique).

La maintenance technique des installations est assurée par :

- Le responsable technique et/ou son suppléant pour ce qui concerne l'entretien de premier niveau (changement d'un luminaire, d'un fusible par exemple) ou le constat de pannes et le contact avec les prestataires de services.
- Les entreprises prestataires pour l'entretien régulier des installations (changement des filtres par exemple) et les interventions sur pannes importantes.

Le contrôle périodique des extincteurs est assuré en présence du responsable technique de la zone.

Le personnel de sécurité et de gardiennage n'est pas autorisé à pénétrer dans la zone L3. Un contrôle visuel est effectué par les surfaces vitrées (oculus et baies extérieures).

| |
|--|
| CONDUITE A TENIR EN CAS DE PANNE DE L'INSTALLATION OU D'URGENCE |
|--|

(Cette partie est appelée à être complétée)

Rappel important :

Evitez de venir seul en zone confinée L3.

En cas d'impossibilité, prévenez toujours quelqu'un.

I – Panne des installations :

- Avant d'entrer en zone de confinement :
 - Vérifier que le local est en dépression sur le témoin gradué situé près de la porte. Si ce n'est pas le cas, n'entrez pas et signalez le problème au responsable technique dont le nom est noté à l'entrée du sas.
- Vous êtes bloqué à l'intérieur :
 - Ne paniquez pas.
 - Appelez par téléphone une des personnes dont les numéros figurent près de l'appareil. Demandez-lui de venir contrôler la bonne fermeture de la porte extérieure du sas.
 - En dernier recours, utilisez le boîtier de déverrouillage qui alimente le système d'asservissement des portes.
 - Sortez et signalez le(s) problème(s) sur le « Cahier de visites » et au responsable technique.
- Vous observez un dysfonctionnement :
 - Signalez-le rapidement au responsable technique qui interviendra ou fera intervenir l'entreprise ad hoc.

II – En cas d'urgence :

- ***Incendie ou problème à l'intérieur de zone confinée***
 - Ne paniquez pas.
 - Appelez les pompiers ou l'accueil. Numéros visibles près du téléphone.
 - Si le feu est naissant, utilisez les extincteurs sans prendre de risque.
 - Attaquez la base des flammes.
 - En cas de besoin, évacuez en utilisant les issues de secours (sas ou vitre à briser près des chambres de culture).
 - Assurez-vous de la présence des autres personnes qui fréquentent ces locaux.
- ***Malaise ou accident***
 - Ne paniquez pas.
 - Pratiquez ou faites pratiquer les gestes de premiers secours.
 - Appelez le numéro d'urgence visible près du téléphone.

FICHE D'EXPERIMENTATION L3

La signature de cette fiche vaut acceptation des règles énumérées dans le règlement qui vous a été remis.

| | | |
|----------|--------|-----------|
| Fiche n° | Date : | Cellule : |
|----------|--------|-----------|

1- Responsables de l'expérience :

Laboratoire :

1^{er} responsable :

Coordonnées :

2^{ème} responsable :

Coordonnées :

2- Expérimentation :

Objectifs :

Références de l'agrément CGG :

Date de début :

Date de fin :

| | Photopériode (heures) | Température (°C) | Hygrométrie (%HR) |
|------|-----------------------|------------------|-------------------|
| Jour | | | |
| Nuit | | | |

3- Nature du matériel végétal :

Espèce :

Variété :

Origine :

Méthode de transformation :

Nature des transgènes :

Nombre d'individus :

| SIGNATURES | | |
|---------------|-----------------------------|-------------------|
| L'utilisateur | Le responsable scientifique | Le chef de centre |
| | | |