

Charte de Fonctionnement du Pôle Technologique du CRCT

Préambule : Le non respect des règles contenues dans la présente charte expose l'utilisateur à l'interdiction d'accès pure et simple, à l'ensemble des différents plateaux du Pôle Technologique. Cette Charte est validée par le Conseil de Laboratoire du CRCT.

Sommaire

- I. Présentation du Pôle Technologique
- II. Comité de veille technologique
- III. Fonctionnement des plateaux du Pôle Technologique
- IV. Les engagements du Pôle Technologique
- V. Vos engagements
- VI. Tarification
- VII. Hygiène et sécurité
- VIII. Document d'engagement de respect de la Charte du Pôle Technologique

Annexes

- ANNEXE 1: Liste des personnels à contacter
- ANNEXE 2: Liste des équipements disponibles
- ANNEXE 3: Règlement intérieur - Cytométrie et Tri cellulaire
- ANNEXE 4: Règlement intérieur - Imagerie cellulaire
- ANNEXE 5: Règlement intérieur - Génomique et transcriptomique
- ANNEXE 6 : Règlement intérieur - Vectorologie
- ANNEXE 7 : Règlement intérieur des laboratoires L2
- ANNEXE 8 : Règlement intérieur-Irradiateur

Charte de fonctionnement du Pôle Technologique du CRCT

I. Présentation du Pôle Technologique

Le Pôle Technologique est situé au 1^{er} étage du bâtiment A du Centre de Recherches en Cancérologie de Toulouse, 2 avenue Hubert Curien, 31100 Toulouse.

Sous la direction de Frédéric Lopez, il regroupe les plateaux de Protéomique et Interactions Moléculaires, de Cytométrie et Tri cellulaire, d'Imagerie cellulaire, de Génomique et Transcriptomique, de Bioinformatique, de Vectorologie, et le Centre de Ressources Biologiques.

Le Pôle Technologique a pour vocation de fournir des prestations technologiques réalisées par les ingénieurs des différents plateaux (Cf. Annexe 1) et de donner accès à des équipements spécifiques (Cf. liste en Annexe 2). Les prestations et équipements disponibles sont détaillés sur le site internet <http://www.poletechno-crct.inserm.fr/>

L'ensemble des prestations réalisées après accord sur devis, ainsi que l'accès aux technologies disponibles feront l'objet d'une tarification.

Le Pôle Technologique peut également être « équipe partenaire » dans la cadre de contrats (type ANR, privé, européen, Inca etc...). Dans ce cas, les prestations ne se feront pas sur devis mais feront l'objet d'une enveloppe globale, prévue par ce contrat.

Il est ouvert à l'ensemble de la communauté scientifique locale, régionale, nationale, internationale publique ou privée.

II. Comité de veille technologique

Ce comité a une cellule de base composée du responsable du Pôle, d'un représentant de la direction et de 4 membres permanents nommés.

En fonction des perspectives d'investissement technologique, cette cellule de base fait appel aux compétences des ingénieurs du Pôle et des représentants des équipes ayant une sensibilité pour la technologie ciblée.

Ses missions sont les suivantes:

- * Stratégie générale de développement du Pôle
- * Recensement/discussion des besoins en équipement
- * Stratégie de financement et des moyens à mettre en œuvre
- * Bilan annuel et perspectives de l'activité du Pôle
- * Organisation de séminaires/workshops technologiques en lien avec le CAS

III. Fonctionnement des plateaux du Pôle Technologique (PT)

III.1. Protéomique

L'analyse commence uniquement à la réception du devis signé par le chef d'équipe ou le responsable du Projet. Les expertises liées aux Interactions Moléculaires feront l'objet d'un devis indicatif, celui-ci pouvant évoluer en fonction des résultats obtenus. De plus, la présence de l'utilisateur le jour de la réalisation de l'expertise est vivement recommandée.

A l'exception du Typhoon (Scanner à fluorescence), les appareils du plateau de protéomique ne sont pas en libre accès. Le Typhoon fait cependant l'objet d'une formation à l'utilisation puis d'une réservation, *via* le site <http://crct-grr/login.php>.

Charte de fonctionnement du Pole Technologique du CRCT

III.2. Cytométrie et Tri cellulaire

A l'exception du trieur de cellules ARIA Fusion, les appareils du plateau de cytométrie sont en accès libre. Toutefois, avant toute première utilisation, le personnel du plateau devra être consulté ; l'utilisateur suivra **une formation obligatoire**. Les réservations sont faites sur le site <http://crct-grr/login.php>. Pour les expertises nécessitant une assistance/expertise technique (trieur de cellules), il est impératif de prendre un rendez-vous avec le personnel du plateau afin de discuter du projet et définir un planning. L'utilisateur s'engage à respecter le règlement intérieur du plateau de Cytométrie (Annexe 3) qui lui aura été donné par le responsable du plateau.

III.3. Imagerie

Les appareils du plateau d'imagerie sont en accès libre.

Toutefois, avant toute première utilisation, le personnel du plateau devra être consulté ; l'utilisateur suivra **une formation obligatoire**. Les réservations sont faites sur le site <http://crct-grr/login.php>. Pour les expertises nécessitant une assistance/expertise technique il est impératif de prendre un rendez-vous avec le personnel du plateau afin de discuter du projet et définir un planning. L'utilisateur s'engage à respecter le règlement intérieur (Annexe 4) qui lui aura été donné par le responsable du plateau Imagerie.

III.4. Bio-informatique

Le plateau de bio-informatique propose du traitement de données issues des analyses de Génomique, Transcriptomique, Protéomique, du data-mining, de l'exploration de réseaux de gènes et du développement d'algorithmes dédiés si nécessaire. L'utilisateur prendra rendez-vous avec le responsable de plateau afin de discuter du projet, définir ses besoins et établir un planning.

III.5. Vectorologie

Chaque nouvel utilisateur devra prendre rendez-vous avec le personnel du plateau, afin de définir ses besoins. Différents niveaux de prestations sont proposés, allant d'une aide technique de l'utilisation de vecteurs viraux jusqu'à un service tout à façon.

Dans le cadre d'une utilisation de la zone confinée L3, le nouvel utilisateur prendra connaissance du règlement intérieur du plateau de Vectorologie et des procédures de travail, dans son intégralité (Annexe 6). Après formation avec le personnel titulaire du laboratoire, un formulaire d'autorisation d'accès au laboratoire de niveau de CONFINEMENT 3 lui sera remis. Ce formulaire dans lequel l'utilisateur s'engage à respecter le règlement intérieur sera cosigné par son responsable d'équipe et le responsable du laboratoire de Vectorologie.

Les réservations sont faites sur le site <http://crct-grr/login.php>, une semaine à l'avance.

Charte de fonctionnement du Pole Technologique du CRCT

III.6. Génomique et Transcriptomique

Les appareils de qPCR et le CLARIOstar sont en accès libre. La bonne utilisation des appareils est placée sous la **responsabilité de chaque utilisateur**. La formation à l'utilisation de ces appareils est autorisée entre personnes du centre moyennant le respect des appareillages et des règles élémentaires d'utilisation du plateau. Le Fragment Analyzer est en accès libre **uniquement pour les utilisateurs réguliers, formés** par le personnel du plateau. Les réservations sont faites sur le site <http://crct-grr/login.php>.

Les autres technologies ne sont pas en accès libre. Il est impératif de prendre un rendez-vous avec le personnel du plateau afin de discuter du projet et définir un planning.

L'utilisateur s'engage à respecter le règlement intérieur (Annexe 5) qui lui aura été donné par le responsable du plateau Génomique et Transcriptomique.

III.7. Centre de Ressources Biologiques

L'activité de la tumorotheque HIMIP (Hémopathies malignes de l'Inserm en **Midi-Pyrénées**) consiste à stocker (cellules congelées en DMSO, ADN/ARN et culots cytogénétiques) dans un double but sanitaire et de recherche sur les hémopathies malignes (Leucémies aiguës myéloïdes, leucémies lymphoïdes chroniques, Leucémies aiguës lymphoblastiques, lymphomes et syndromes lymphoprolifératifs...). Pour la cession des échantillons dans un but de recherche, le CRB fonctionne sous couvert d'un conseil scientifique. Pour toute demande d'échantillon dans le cadre d'un programme de recherche, le collaborateur scientifique devra s'adresser au responsable du CRB (Annexe 1).

III.8. Irradiateur

L'irradiateur est localisé dans la zone ENI du CREFRE au rez-de-chaussée du CRCT. Du fait des contraintes de zone ainsi que de la complexité d'utilisation de la machine, l'utilisation en autonomie sera restreinte. Il est sous la responsabilité technique de Caroline Delmas, qui aidera l'utilisateur à planifier et effectuer ses acquisitions et irradiations.

Son utilisation est soumise à un règlement intérieur spécifique (cf. Annexe 7). Les réservations se font par l'intermédiaire du site <https://crefre.mygrr.net> dans l'onglet « irradiateur CRCT Langlade »

IV. Les engagements du PT

IV.1. Mise en œuvre technologique

Le PT s'engage à:

- Accompagner l'utilisateur dans le choix de la technologie et la conception de l'expérimentation
- Accompagner l'utilisateur dans la rédaction des matériels et méthodes ainsi que dans la mise en forme des figures. Les résultats générés par les plateaux de Protéomique, Génomique-Transcriptomique et Bioinformatique font l'objet d'un rapport d'analyse.
- Assurer la traçabilité des expériences
- Assurer une veille technologique, maintenir le parc matériel à un haut niveau de performance et garantir un haut niveau d'expertise

Charte de fonctionnement du Pole Technologique du CRCT

Les plateaux du PT ont l'obligation de mettre en œuvre de façon efficace et rigoureuse tous les moyens technologiques dont ils disposent afin de garantir le succès des expériences réalisées. Cependant, un résultat n'est pas seulement le produit de l'utilisation de la technologie. La nature, l'intégrité et la bonne qualité des échantillons fournis à la plateforme pour réaliser la prestation sont primordiales. Dans le cas d'un litige à propos d'un résultat non conforme au résultat « espéré », et dans la mesure où le plateau prouvera que tout a été mené à bien sur le plan technique alors le PT déclinera toute responsabilité et l'utilisateur devra s'acquitter de la facture.

Dans le cas d'un défaut technique, le plateau prendra à sa charge le coût de l'expérience.

IV.2. Confidentialité/Propriété des résultats

L'ensemble du personnel du PT s'engage à respecter la confidentialité des données générées. L'utilisateur est propriétaire des données et des résultats générés lors de l'étude, mais le PT reste propriétaire des méthodes utilisées ou développées.

Dans le cas de prestation avec des partenaires privés, un accord de confidentialité pourra être signé.

IV.3. Stockage des données

Les utilisateurs sont responsables de la sauvegarde et de l'archivage de leurs données et de leurs échantillons (cf. [Annexe 4 du règlement intérieur du CRCT](#)). Elles seront stockées sur le réseau informatique du CRCT \\ CRCT-share\CRCT-Plateaux\ Imagerie ou Cytométrie... \appareil\CRCT. X.

Les utilisateurs extérieurs au CRCT n'ayant pas accès au réseau CRCT-share récupéreront leurs données sur une clé auprès du responsable du plateau ou par email.

Aucune donnée issue des plateaux Imagerie, Cytométrie et Transcriptomique ne sera stockée sur le serveur CRCT-share\CRCT-plateaux au-delà de 1 an.

IV.4. Démarche Qualité

Le Pôle Technologique a obtenu en Mars 2018 la double certification ISO 9001:2015 et NFX 50-900 v-2016. La politique Qualité et les engagements sont décrits dans le Manuel Qualité du PT.

Dans ce contexte, et pour répondre aux exigences des deux normes, des documents sont à remplir par les utilisateurs des plateaux.

Charte de fonctionnement du Pole Technologique du CRCT

V. Vos engagements

L'utilisateur s'engage à:

- Respecter les protocoles et conseils de préparation des échantillons proposés par le PT
- Fournir du matériel biologique de qualité, avec des contrôles le cas échéant
- Respecter les procédures de réservation et d'utilisation des appareils en accès libre
- Remplir les documents Qualité

Dans le cadre des études de protéomique, de bioinformatique, de vectorologie, des études de cytométrie et d'imagerie ayant fait appel à l'expertise technique du personnel du Pôle, **ce personnel et le responsable du Pôle seront dans les auteurs de la publication.**

Pour les études n'ayant pas nécessité d'expertise (matériel en libre accès), le personnel du plateau référent sera, à minima, remercié.

Dans les publications où figureront les résultats produits par le PT, le PT sera cité comme suit :

« Pôle Technologique du CRCT – Plateau Protéomique ou Imagerie ou Cytométrie ou Bioinformatique ou Vectorologie etc....

INSERM-UMR1037 »

Dans le cadre des prestations fournies par le CRB, le client fera apparaître dans le « matériel et méthodes » le paragraphe suivant :

« Fresh and thawed samples (or derivative products, or AND ARN etc) from ALL or AML patients have been obtained after informed consent and stored at the HIMIP collection (BB-0033-00060). According to the French law, HIMIP collections has been declared to the Ministry of Higher Education and Research (DC 2008-307 collection 1) and obtained a transfer agreement (AC 2008-129) after approbation by the "Comité de Protection des Personnes Sud-Ouest et Outremer II" (ethical committee). Clinical and biological annotations of the samples have been declared to the CNIL (Comité National Informatique et Libertés ie Data processing and Liberties National Committee) and is supported by CAPTOR (Cancer Pharmacology of Toulouse-Oncopole and Region). »

Le CRB « HIMIP » apparaîtra en remerciement et/ou un des gestionnaires en coauteurs (selon l'importance de la contribution).

I. Tarification

Toutes les analyses proposées par le PT sont soumises à une tarification mise à jour au début de l'année civile, et approuvée par la Délégation Régionale. Le calcul de cette tarification répond à une procédure établie par le Département des affaires financières de l'INSERM (ref : DAF 2008-30).

Cette tarification fera le *distinguo* entre les équipes émanant des Centres de recherche publique (INSERM, CNRS, Université, INRA...) et les entreprises privées.

De plus, conformément à la demande du département des Affaires Financières de l'INSERM, des frais de gestion et d'hébergement (15%) sont appliqués sur les factures pour les équipes de recherche publiques qui n'ont pas la tutelle de l'UPS et les sociétés privées.

A l'exception des appareils de PCR quantitative et du Fragment Analyzer (Génomique- Transcriptomique) pour lesquels la tarification sera dépendante du nombre de runs, et de l'utilisation du Seahorse dont la tarification dépend du kit utilisé, la tarification des appareils en libre accès et faisant l'objet d'une réservation *via* un planning, dépend des plages horaires réservées sur ce planning.

L'utilisation du lecteur de plaques CLARIOstar n'est pas facturée.

Charte de fonctionnement du Pole Technologique du CRCT

II. Hygiène et sécurité

Le fonctionnement des laboratoires du Pôle Technologique est soumis aux règles d'hygiène et de sécurité appliquées dans les laboratoires du CRCT (*cf.* règlement intérieur du CRCT), et en particulier les laboratoires L2.

- Echantillons: l'utilisateur devra être en mesure de fournir toutes les informations relatives à son échantillon et au risque encouru par le manipulateur (origine, pathogénicité...).
- Laboratoire L2 : l'utilisation du laboratoire L2 du Pôle est soumise à la réglementation des laboratoires confinés de type L2. (*cf.* règlement intérieur de l'utilisation du L2 PT, annexe 7).
- Laboratoire L3: l'utilisation du laboratoire du plateau de Vectorologie est soumise à la réglementation des laboratoires confinés de type L3. (*cf.* règlement intérieur du plateau de Vectorologie, annexe 6).
- Utilisation des appareils: chaque utilisateur est responsable de l'état des appareils qu'il aura utilisés en libre accès. Il devra suivre les protocoles d'allumage, de rinçage et/ou nettoyage et d'extinction. **Tout dysfonctionnement devra être signalé aux responsables des plateaux.**
- Utilisation des plateaux en horaires décalés : selon le Règlement intérieur du Centre, les horaires d'ouverture sont de 7h30 à 19h30 les jours ouvrables.

En dehors de ces horaires, et à **titre exceptionnel**, les utilisateurs pourront accéder aux plateaux, si et seulement si ils ont rempli l'autorisation de travail en horaires décalés. Après quoi un badge configuré pour un accès en week-end ou en dehors de ces heures leur sera délivré, afin d'accéder au Pôle Technologique.

Charte de fonctionnement du Pole Technologique du CRCT

III. Document d'engagement de respect de la Charte du PT

Je, soussigné,

Fonction, Equipe :



Nom du responsable hiérarchique :

« Reconnaiss avoir pris connaissance de la Charte de fonctionnement du PT du CRCT. Je m'engage à la respecter et notamment le paragraphe concernant la valorisation des résultats »

Date :

Signature de l'utilisateur

Signature du responsable hiérarchique

Charte de fonctionnement du Pole Technologique du CRCT

Annexes

ANNEXE 1: Liste des personnels à contacter

Responsable du Pôle	Frédéric Lopez	frederic.lopez@inserm.fr	05.82.74.15.91
Protéomique	Laetitia Ligat	laetitia.ligat@inserm.fr	05.82.74.15.92
	Frédéric Pont	frederic.pont@inserm.fr	05.82.74.15.97
	Nathalie Saint-Laurent	nathalie.saint-laurent@inserm.fr	05.82.74.15.92
Cytométrie et Tri Cellulaire	Manon Farcé	manon.farce@inserm.fr	05.82.74.16.01
Imagerie	Laetitia Ligat	laetitia.ligat@inserm.fr	05.82.74.15.92
Irradiateur	Caroline Delmas	Delmas.Caroline@iuct-oncopole.fr	05.82.74.16.04
CRB	Véronique De Mas	DeMas.Veronique@iuct-oncopole.fr	
Vectorologie	Loïc Van Den Berghe	louis.vandenbergh@inserm.fr	05.82.74.15.98
	Tiphaine Fraigneau	tiphaine.fraigneau@inserm.fr	05.82.74.15.98
Bio-informatique	Marie Tosolini	marie.tosolini@inserm.fr	05.82.74.15.97
	Frédéric Pont	frederic.pont@inserm.fr	05.82.74.15.97
	Juan-Pablo Cerapio Arroyo	juan-pablo.cerapio-arroyo@inserm.fr	05.82.74.15.92
Génomique et transcriptomique	Carine Valle	carine.valle@inserm.fr	05.82.74.15.98
	Emeline Sarot	emeline.sarot@inserm.fr	05.82.74.15.92
Gestionnaire, RMQ	Géraldine Touriol	geraldine.touriol@inserm.fr	05.82.74.75.85

ANNEXE 2: Liste des équipements disponibles

Protéomique /Interactions moléculaires

- Biacore T200 (GEHealthcare)
- Typhoon 9400 (GEHealthcare)
- Ettan Spot Picker (GEHealthcare)
- Spectromètre AMAZON ETD (Bruker)
- PF2D (Beckman)
- AB SCIEX TripleTOF® 5600 System.

Cytométrie

- MACSQuant 10 (Miltenyi Biotec)
- MACSQuant VYB (Miltenyi Biotec)
- LRSII (BD Biosciences)
- Fortessa X20 (BD Biosciences)
- AutoMACS (Miltenyi Biotec)

Charte de fonctionnement du Pole Technologique du CRCT

- Melody (BD Biosciences)
- ARIA Fusion (BD Biosciences)

Imagerie

- Axio vert.A1 (ZEISS)
- Vidéomicroscope Cell Observer (ZEISS)
- Confocal LSM 780 (ZEISS)
- Confocal LSM880 FastAiryScan (ZEISS)
- Operetta CLS (Perkin Elmer)
- Ivis Spectrum (Perkin Elmer)

Irradiateur

- XRad Smart
- Système d'anesthésie et de confinement Minerve
- PSM de type 2

Vectorologie

- Autoclave double entrée Getinge
- Une ultracentrifugeuse (Beckman Coulter) équipée d'un rotor SW32
- 2 centrifugeuses AWEL MF48R et une centrifugeuse Hettich Rottina420R
- 3 PSM type II
- 3 microscopes à fluorescence ZOÉ (Bio- Rad)
- 3 compteurs cellulaires Scepter Cell (Millipore)
- 4 incubateurs CO₂ (Panasonic) et 2 incubateurs CO₂ (Heraeus)
- 3 systèmes autonomes d'aspiration de milieu Vacubrand
- 1 congélateur -80°C dédié au stockage des vecteurs produits

Génomique et Transcriptomique

- 7500Fast Real TimePCR System (Applied Biosystems)
- Step One Plus (Applied Biosystems) x2
- Fragment Analyzer
- Scanner de puce SNP ou méthylation iScan (Illumina)
- nCounter (Nanostring Technologies)
- Chromium single cell (10X Genomics)
- Séquenceur NGS Next-Seq550 (Illumina)
- Station GeneChip Scanner 3000 (Affymetrix)

Charte de fonctionnement du Pole Technologique du CRCT

Matériel commun

- Lecteur de Microplaques ClarioStar (BMG Labtech)
- Bain Ultrasons Bioruptor (Diagenode)
- Enceinte Hypoxie Sci-tive
- SeaHorse XFe 24 Analyzer (Agilent)
- L2 dédié à l'utilisation de vecteurs viraux équipé avec :
 - PSM type II
 - 2 Incubateurs Panasonic CO₂
 - 1 centrifugeuse Eppendorf 418R
 - 1 microscope à fluorescence ZOÉ (Bio- Rad)
 - 1 compteur de cellules Luna
 - 1 pipetaid
 - 1 jeu de micropipettes
 - 1 réfrigérateur
 - 1 bain-marie
- L2 Culture cellulaire avec:
 - 2 PSM type II
 - 2 Incubateurs Panasonic CO₂
 - 1 centrifugeuse Heraeus 400R
 - 1 microscope inverse Nikon
 - 2 jeux de micropipettes
 - 1 réfrigérateur
 - 1 bain-marie

Charte de fonctionnement du Pole Technologique du CRCT

ANNEXE 3 : Règlement intérieur – Cytométrie et tri cellulaire

	Plateau technique de Cytométrie et Tri cellulaire	
	Règlement Intérieur	

Ce règlement établit la bonne utilisation des services offerts par le plateau technique de cytométrie et tri cellulaire du CRCT.

LISTE DU MATERIEL DISPONIBLE SUR LE PLATEAU DE CYTOMETRIE

- Cytomètres analyseurs :
 - MACSQuant 10 (Miltenyi Biotec)
 - MACSQuant VYB (Miltenyi Biotec)
 - LSRII (BD Biosciences)
 - Fortessa X20 (BD Biosciences)
- Automate de tri magnétique: AutoMACS Pro separator (Miltenyi Biotec)
- Trieurs cellulaires :
 - Melody (BD Biosciences)
 - Aria Fusion (BD Biosciences)

1 - ACCES AU PLATEAU DE CYTOMETRIE

Les personnes souhaitant utiliser les appareils du plateau doivent au préalable compléter la "fiche utilisateur" et la retourner signée aux personnels du service.

8h-9h	9h-17h30	17h30-19h
Accès en autonomie		
Formations, assistance...		

➤ Appareils en libre-service (cytomètres analyseurs et automate de tri cellulaire)

Chaque nouvel utilisateur devra être initialement formé par le personnel du service sur le(s) système(s) qu'il souhaite utiliser. **Cette formation est obligatoire.**

Après formation et mise en autonomie, l'utilisateur pourra accéder au planning de réservation et gérer lui-même son compte (modification, suppression des réservations...).

Dans le cas d'un besoin d'assistance, il est impératif de contacter le personnel du plateau avant de se réserver en ligne.

Les réservations se font sur le site <http://crct-grr/login.php>. L'utilisateur doit choisir la ressource, préciser l'heure de début de réservation ainsi que sa durée. La **durée maximale de réservation est fixée à 3 heures par jour** (entre 8h00 et 19h00). En cas de besoin supplémentaire, l'utilisateur doit utiliser les appareils en fin de journée. Les utilisateurs

Charte de fonctionnement du Pole Technologique du CRCT

s'engagent à ne pas réserver de créneau plus de deux semaines à l'avance. En cas d'utilisation soutenue de l'appareil, contacter les responsables du plateau.

A chaque fin de séance, l'utilisateur devra remplir la fiche de Suivi Utilisateur posée à côté de l'appareil en indiquant son nom, prénom, laboratoire et la durée d'utilisation du système.

La facturation sera établie à partir des heures réservées sur le planning informatique. En cas de modification de la durée effective de la séance (diminution ou prolongation de la séance) l'utilisateur doit reporter cette modification sur le planning.

Cette modification peut être faite au plus tard 3h avant le début de la réservation.

Les utilisateurs extérieurs au CRCT n'ayant pas accès au planning de réservation doivent contacter les responsables du plateau.

➤ **Trieur de cellules**

Il est impératif de prendre rendez-vous avec les responsables pour discuter du projet et établir le planning de réservation. Le trieur n'est pas en libre-service, il est sous la responsabilité du personnel du plateau. Chaque utilisateur s'engage à respecter le protocole de préparation de l'échantillon à trier. Toute annulation d'expérience de tri doit être signalée le plus tôt possible ; un désistement la veille ou le jour même fera l'objet d'une facturation de 1 heure.

2 - EXTINCTION ET NETTOYAGE DES APPAREILS

En fin de séance, l'utilisateur s'engage à suivre les protocoles de lavage indiqués à côté de chaque appareil. Le changement du liquide de gaine et le changement des bidons de déchets sont des tâches qui incombent à tous les utilisateurs. **Chacun est responsable de l'état de propreté dans lequel il laisse l'appareil en fin de séance.** Le dernier utilisateur de la journée devra éteindre le système selon le protocole indiqué pour chaque appareil.

3 - ENGAGEMENT DE VIGILANCE

L'utilisateur s'engage à signaler immédiatement aux personnels tout dysfonctionnement qu'il aurait pu constater ou provoquer sur le plateau (dérèglement d'un appareil, bouchage, problème informatique...).

4 - HYGIENE ET SECURITE

Les utilisateurs doivent fournir toutes les informations sur les échantillons quant aux risques éventuels tant pour les manipulateurs que pour le matériel (pathogènes, virus...).

Le plateau se réserve le droit de ne pas réaliser un projet si les échantillons présentent des risques.

Charte de fonctionnement du Pole Technologique du CRCT

5 - GESTION DES DONNEES

Chaque utilisateur doit transférer ses données sur le serveur selon la procédure indiquée à côté de chaque appareil. Ces données doivent être récupérées dans un délai de 30 jours. **Au-delà de ce délai le personnel du plateau les supprimera.**

Les données sont sous la responsabilité de chaque utilisateur, **le plateau n'assure pas leur stockage.**

6 - PUBLICATIONS

Conformément à la charte du Pôle technologique du CRCT, les utilisateurs s'engagent à citer le plateau soit dans les remerciements, soit dans la partie expérimentale des publications, soit à faire figurer le personnel du plateau et le responsable du pôle en co-auteurs selon leur implication dans le projet. **Les publications réalisées avec l'utilisation du service doivent être communiquées aux ingénieurs du plateau.**

Les responsables du plateau se réservent le droit d'empêcher l'accès à un utilisateur en cas de non-respect des règles énoncées dans le présent document.

Plateau technique de Cytométrie et Tri cellulaire

Manon Farcé

manon.farce@inserm.fr

Tél : 05.82.74.16.01

Charte de fonctionnement du Pole Technologique du CRCT

ANNEXE 4: Règlement intérieur – Imagerie cellulaire

	Plateau technique d'Imagerie Cellulaire	
	Règlement Intérieur	

Ce règlement établit la bonne utilisation des services offerts par le plateau technique d'Imagerie du CRCT.

LISTE DU MATERIEL DISPONIBLE SUR LE PLATEAU D'IMAGERIE

- Axio Vert A.1 : ZEISS
- Vidéo Microscope : ZEISS « Cell Observer »
- Microscope Confocal : ZEISS « LSM780 »
- Microscope Confocal : ZEISS « LSM880 Fast AiryScan »
- High Content Screening : Perkin Elmer « Operetta CLS »

1 - ACCES AU PLATEAU D'IMAGERIE

Les équipes souhaitant utiliser les appareils du plateau doivent au préalable compléter la "fiche de demande" et la retourner aux personnels du service.

8h-9h	9h-17h30	17h30-19h
Accès en autonomie		
Formations, assistances...		

➤ Appareils en libre-service ou Assistance

Chaque nouvel utilisateur devra être initialement formé par le personnel du service sur le(s) système(s) qu'il souhaite utiliser. **Cette formation est obligatoire.**

Après formation et mise en autonomie, l'utilisateur pourra accéder au planning de réservation et gérer lui-même son compte (modification, suppression des réservations...).

Dans le cas d'un besoin d'assistance, il est impératif de contacter le personnel du plateau avant de se réserver en ligne.

Les réservations se font sur le site <http://crct-grr/login.php>. L'utilisateur doit choisir la ressource, préciser l'heure de début de réservation ainsi que sa durée. La **durée maximale de réservation est fixée à 2 heures par jour pour du fixé et 4 heures pour du live** (entre 8h00 et 19h00). En cas de besoin supplémentaire, l'utilisateur doit utiliser les appareils en fin de journée. Les utilisateurs s'engagent à ne pas réserver de créneau plus de deux semaines à l'avance. En cas d'utilisation soutenue de l'appareil, contacter les responsables du plateau.

A chaque fin de séance, l'utilisateur devra remplir la fiche de Suivi Utilisateur posée à côté de l'appareil en indiquant son nom, prénom, laboratoire et la durée d'utilisation du système.

La facturation sera établie à partir des heures réservées sur le planning informatique. En cas de modification

Charte de fonctionnement du Pole Technologique du CRCT

de la durée effective de la séance (diminution ou prolongation de la séance) l'utilisateur doit reporter cette modification sur le planning.

Cette modification peut être faite au plus tard 3h avant le début de la réservation.

Les utilisateurs extérieurs au CRCT n'ayant pas accès au planning de réservation doivent contacter les responsables du plateau.

2.- EXTINCTION ET NETTOYAGE DES APPAREILS

En fin de séance, l'utilisateur s'engage à suivre les protocoles de lavage indiqués à côté de chaque appareil. **Chacun est responsable de l'état de propreté dans lequel il laisse l'appareil en fin de séance.** Le dernier utilisateur de la journée devra éteindre le système selon le protocole indiqué pour chaque appareil et fermer la porte.

3.- ENGAGEMENT DE VIGILANCE

L'utilisateur s'engage à signaler immédiatement aux personnels tout dysfonctionnement qu'il aurait pu constater ou provoquer sur le plateau (dérèglement d'un appareil, problème informatique...).

4.- HYGIENE ET SECURITE

Les utilisateurs doivent fournir toutes les informations sur les échantillons quant aux risques éventuels tant pour les manipulateurs que pour le matériel (pathogènes, virus...).

Le plateau se réserve le droit de ne pas réaliser un projet si les échantillons présentent des risques.

5.- GESTION DES DONNEES

Chaque utilisateur doit transférer ses données sur le serveur selon la procédure indiquée à côté de chaque appareil. Ces données doivent être récupérées dans un délai de 30 jours. **Au-delà de ce délai le personnel du plateau les supprimera.**

Les données sont sous la responsabilité de chaque utilisateur, **le plateau n'assure pas leur stockage.**

6- PUBLICATIONS

Conformément à la charte du Pôle technologique du CRCT, les utilisateurs s'engagent à citer le plateau soit dans les remerciements, soit dans la partie expérimentale des publications, soit à faire figurer le personnel du plateau et le responsable du pôle en co-auteurs selon leur implication dans le projet. **Les publications réalisées avec l'utilisation du service doivent être communiquées aux ingénieurs du plateau.**

Les responsables du plateau se réservent le droit d'empêcher l'accès à un utilisateur en cas de non-respect des règles énoncées dans le présent document.

Après lecture du document, l'utilisateur et le responsable scientifique du projet s'engagent à respecter ce règlement intérieur.

Plateau technique d'Imagerie Cellulaire

Laetitia Ligat

laetitia.ligat@inserm.fr

Tél : 05.82.74.30.15

Charte de fonctionnement du Pôle Technologique du CRCT

ANNEXE 5: Règlement intérieur – Génomique et Transcriptomique

	Plateau Génomique et Transcriptomique	
	Règlement intérieur Version Mai 2018	

Ce règlement établit la bonne utilisation des appareils présents sur le plateau technique de Génomique et Transcriptomique du CRCT. Chaque utilisateur s'engage individuellement à respecter le présent règlement intérieur.

LISTE DES APPAREILS/TECHNOLOGIES DISPONIBLES SUR LE PLATEAU :

Contrôle Qualité ARN, ADNg, PCR, librairies NGS...

Electrophorèse micro-capillaire	Fragment Analyzer (AATI)
Lecteur de plaque micro volume	CLARIOstar (BMG Labtech)

Expression Transcriptomique

qPCR	StepOnePlus n°1 (Applied Biosystems) StepOnePlus n°2 (Applied Biosystems) ABI 7500 Fast (Applied Biosystems)
Quantification digitale de panel de gènes	nCounter (NanoString Technologies)
Puce ARN	GeneChip Scanner 3000 (Affymetrix)
Séquençage RNA-seq en cellule unique	Chromium Single Cell Controller (10X genomics)

Génotypage SNP GWAS

Puce ADN	iScan (Illumina)
----------	------------------

Méthylome

Puce ADN	iScan (Illumina)
----------	------------------

Séquençage

Séquençage RNA-seq, Exome...	NextSeq 550 (Illumina)
------------------------------	------------------------

Une prestation de service pour la technologie ddPCR (droplet digital PCR, QX200, Biorad), peut également être réalisée.

1. ACCÈS AU PLATEAU

Les personnes souhaitant utiliser les appareils du plateau de Génomique et Transcriptomique doivent obligatoirement se faire connaître auprès des responsables. Chaque utilisateur s'engage individuellement à respecter le présent règlement intérieur.

Le plateau de Génomique et Transcriptomique est ouvert de 7h30 à 19h30 selon les modalités suivantes :

Charte de fonctionnement du Pôle Technologique du CRCT

7h30 – 9h	9h – 17h30	17h30 – 19h30
	Formation, Assistance	
Accès en autonomie		

➤ Appareils en libre accès (StepOne, ABI7500, CLARIOstar)

Les appareils de qPCR et le lecteur de plaque sont en accès libre. La formation à l'utilisation de ces appareils est autorisée entre personnes moyennant le respect des appareillages et des règles élémentaires d'utilisation du plateau. Une formation ou une assistance peut également être demandée au personnel du plateau.

Chaque utilisateur des appareils de qPCR doit remplir, avant la 1^{ère} utilisation, une fiche de renseignements « Fiche utilisateur GEN » sur laquelle l'identifiant personnel pour la réservation des appareils est définie.

➤ Appareil en libre accès suite à formation obligatoire (Fragment Analyzer)

Le libre accès au Fragment Analyzer n'est autorisé qu'aux utilisateurs réguliers. Pour des besoins ponctuels, le personnel du plateau effectuera l'analyse. L'accès au Fragment Analyzer nécessite d'avoir suivi un processus de formation assuré par le personnel du plateau. La formation par une personne autre que le personnel du plateau n'est pas autorisée.

Pour chaque utilisateur, l'étape de formation se déroule en deux phases :

- Lors de la toute première utilisation de l'appareil, le personnel du plateau assure la présentation générale de l'appareil et réalise l'expérimentation avec l'utilisateur.
- Pour les expérimentations suivantes, le personnel du plateau assiste l'utilisateur jusqu'à ce qu'il soit totalement autonome. La fin de la formation est validée par le personnel du plateau. Tout utilisateur formé et autonome accède ensuite librement à l'appareil.

➤ Appareils en accès restreint (iScan, nCounter, station Affymetrix, NextSeq, Chromium)

Les technologies iScan, nCounter, Affymetrix, NextSeq, Chromium ne sont pas en accès libre. Il est impératif de prendre rendez-vous avec le personnel du plateau pour la mise en place d'un projet.

2. RESPONSABILITÉS ET PRATIQUES GÉNÉRALES

La bonne utilisation des appareils est placée sous la **responsabilité de chaque utilisateur** et nécessite le respect des appareils et des règles élémentaires d'utilisation du plateau. En cas de manquement aux règles générales de fonctionnement, le personnel du plateau se réserve le droit de refuser l'accès aux appareils.

Lors de l'utilisation des appareils du plateau de Génomique et Transcriptomique, l'utilisateur s'engage à :

- Respecter et vérifier la bonne compatibilité des consommables, plastiques et chimies aux appareillages avant toute utilisation,
- Respecter les protocoles d'utilisation de chaque appareil,
- Nettoyer et ranger les espaces de manipulation après utilisation,
- Respecter le planning et le système de réservation de chaque appareil,
- Signaler immédiatement au personnel tout dysfonctionnement qu'il aurait pu constater ou provoquer sur le plateau (dérèglement d'un appareil, problème informatique...). Une fiche « Fiche suivi utilisateur » est également à proximité des appareils, sur laquelle l'utilisateur doit noter tout dysfonctionnement d'appareil ou remarques.

3. RÉSERVATION

Charte de fonctionnement du Pôle Technologique du CRCT

Les appareils en libre accès sont soumis à réservation préalable via le site <http://crct-grr/login.php>. Il est demandé à chaque utilisateur, lors de la réservation d'un créneau, de préciser l'ensemble des informations nécessaires (identifiant personnel et nombre de plaques de qPCR ou nature et nombre de runs de FA), sans quoi la réservation ne sera pas validée. Toute annulation ou modification de créneau doit être indiquée sur <http://crct-grr/login.php>. Il est nécessaire de **bien respecter les créneaux de réservation**. Pour les appareils de qPCR, une annulation de réservation peut être effectuée jusqu'à 1 heure avant le début du créneau. Au-delà, la facturation sera effective.

4. GESTION DES DONNÉES

➤ Acquisition des données

Pour des raisons de sécurité des expériences, les données d'acquisition doivent être impérativement enregistrées en local, sur l'ordinateur associé à l'appareil, dans le dossier dédié.

➤ Récupération des données

La récupération des données passe obligatoirement par l'utilisation du serveur lgd-share. **L'utilisation des clés USB est proscrite**. Après acquisition, vos données doivent être placées :

- pour la qPCR et le fragment Analyzer, dans « \\CRCT-share\CRCT-Plateaux\Biologie moléculaire\Appareil\ CRCT X (dossier spécifique à votre équipe).

- pour le CLARIOstar, dans « \\CRCT-share\CRCT X (dossier spécifique à votre équipe).

Si vous ne disposez pas d'un accès autorisé au serveur CRCT-share, le personnel de plateau vous transmettra, à la demande, les données par mail.

➤ Conservation des données

Les données générées sur le plateau sont conservées de manière "passive" (disque dur des ordinateurs et serveur). Aucune sauvegarde complémentaire n'est réalisée. Un nettoyage des ordinateurs et du serveur est programmé tous les trimestres. Les utilisateurs disposent donc d'un délai de 3 à 4 mois pour récupérer leurs fichiers. Au mois X, toutes les données accumulées au cours des mois X-4 à X-1 seront effacées sans possibilité de les récupérer.

5. EXTINCTION DES APPAREILS

L'Abi7500, le Fragment Analyzer, le CLARIOstar doivent absolument être éteints si aucun utilisateur n'est enregistré après vous dans la journée. Les StepOnes disposent d'un mode de mise en veille autonome. D'une manière générale, les ordinateurs doivent être éteints les weekends et sur les longues périodes de non-utilisation.

6. FACTURATION

L'utilisation des appareils en libre accès (StepOnes, ABI7500, Fragment Analyzer) est facturée trimestriellement aux équipes. La tarification appliquée à chaque appareil est présentée dans les fiches tarifaires disponibles sur demande auprès du plateau de Génomique et Transcriptomique.

L'utilisation du lecteur de microplaque CLARIOstar n'est pas facturée.

Les projets réalisés par le plateau de Génomique et Transcriptomique sur les appareils en accès restreint sont facturés à la remise des résultats, selon un devis proposé et accepté préalablement avant toute manipulation. Une partie du paiement pourra être demandée avant la commande des réactifs s'ils nécessitent un investissement important.

7. HYGIÈNE ET SÉCURITÉ

Charte de fonctionnement du Pôle Technologique du CRCT

En matière d'hygiène et sécurité, le plateau, son personnel et ses utilisateurs sont soumis aux conditions décrites dans la charte du CRCT.

8. PUBLICATIONS

Conformément à la charte du Pôle technologique du CRCT, les utilisateurs s'engagent soit à citer le plateau dans les remerciements, soit à faire figurer le personnel du plateau et le responsable du pôle en co-auteurs, selon leur implication dans le projet. Les publications présentant des données obtenues suite à l'utilisation des appareils du plateau de Génomique et Transcriptomique doivent être communiquées au personnel du plateau.

Après lecture du document, l'utilisateur et le responsable scientifique du projet s'engagent à respecter ce règlement intérieur.

Les responsables du plateau se réservent le droit de refuser l'accès à un utilisateur en cas de non-respect des règles énoncées dans le présent document.

Plateau Génomique et Transcriptomique

Carine Valle
Carine.valle@inserm.fr
Tél: 05.82.74.15.98

Emeline Sarot
Emeline.sarot@inserm.fr
Tél: 05.82.74.15. 92

Charte de Fonctionnement du Pôle Technologique du CRCT

ANNEXE 6: Règlement intérieur – Vectorologie

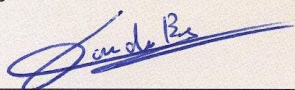
	Plateau de Vectorologie	
	Règlement Intérieur Version Janvier 2016	

Règlement intérieur de la plateforme de Vectorologie (Vectoul)

Loïc VAN DEN BERGHE

RESUME

Ce document a pour objectif de décrire la plateforme de vectorologie du CRCT, les conditions d'accès à la zone confinée L3 du site de l'Oncopôle, les procédures de travail et de traitements des déchets et les conduites à tenir en cas d'urgence. Ce règlement intérieur a été établi sur la base de la 3ème édition du manuel de sécurité biologique en laboratoire édité par l'OMS, le guide « risque biologique » du CNRS, le manuel « les risques biologiques liés aux techniques de génie génétique en laboratoire » de l'INRS et sur la base des connaissances acquises par le personnel statutaire de la plateforme lors de formation INSERM « responsable L2/L3 » et de la formation « Laboratoires de haute sécurité » organisé sur site par l'institut Pasteur de Lille. Ce règlement a été vérifié par le responsable du pôle technologique du CRCT et validé par la direction du centre UMR1037. Toute personne désirant travailler au sein de cette structure doit prendre connaissance de ce document, l'approuver en signant le formulaire d'autorisation d'accès et se conformer aux directives décrites.

Etablie par : L. VAN DEN BERGHE Fonction : Responsable plateforme Grade : IE2 Signature : 	Vérifié par : F. LOPEZ Fonction : Responsable Pôle Technologique Grade : IR1 Signature : 	Validé par : J.J. FOURNIE Fonction : Directeur Centre UMR1037 Grade : DRCE Signature : 
---	--	--

Charte de Fonctionnement du Pôle Technologique du CRCT

	Plateau de Vectorologie	
	Règlement Intérieur Version Janvier 2016	

I. Présentation de la Plateforme de Vectorologie :

1. Organisation :

- La plateforme de Vectorologie (**Vectoul**) est rattaché au Centre de Recherche en Cancérologie de Toulouse (CRCT – UMR1037) qui est une unité mixte de recherche INSERM, CNRS, Université Toulouse III Paul Sabatier. La Plateforme gère deux laboratoires confinés de niveau de sécurité biologique 3 (BSL3), l'un situé sur le site de l'Hôpital de Rangueil, le second situé sur le site de l'Oncopôle. Le présent règlement intérieur se focalise sur la présentation et le fonctionnement de la zone confinée L3 du site de l'Oncopôle.
- Le centre de recherche en Cancérologie (CRCT) est localisé sur le campus Oncopôle de Toulouse-Langlade, 2 Avenue Hubert Curien. Ce laboratoire L3 de la plateforme de vectorologie se situe au 1^{er} étage du bâtiment A.



- La plateforme de Vectorologie fait partie intégrante du pôle Technologique du CRCT qui regroupe actuellement 6 plateformes : Imagerie, production d'anticorps monoclonaux, protéomique, transcriptomique, tri cellulaire & cytométrie et vectorologie. Le pôle Technologique a pour vocation de proposer des prestations technologiques dans ces quatre domaines de compétences à l'ensemble de la communauté scientifique locale et nationale, publique ou privée. Il a également pour vocation de fournir à la communauté scientifique locale, un accès à certains équipements spécifiques.
- L'Organigramme de la structure est le suivant :

Directeur du centre :	Jean-Jacques FOURNIE
Directeur adjoint :	Stéphane PYRONNET
Directeur administratif :	Sébastien GUIBERT
Conseillère de prévention ADR04 :	Sylvie Alloing
Coordinatrice H&S du CRCT :	Catherine ORDENER
Responsable Pôle Technologique :	Frédéric LOPEZ
Directeur du Laboratoire de biothérapies :	Louis BUSCAIL
Responsable Plateforme Vectorologie :	Loïc VAN DEN BERGHE
Assistante de prévention de la plateforme :	Christèle SEGURA
Ingénieur Travaux et maintenance :	Pauline LIRONCOURT
Responsable service Technique :	Cédric CAPILLA

Charte de Fonctionnement du Pôle Technologique du CRCT

	Plateau de Vectorologie	
	Règlement Intérieur Version Janvier 2016	

1. Activités :

- La plateforme propose un service 'à façon' dans le domaine de la vectorologie dont la principale activité concerne la production de vecteurs viraux recombinants défectifs pour la réplication tels que les lentivecteurs et les vecteurs AAV. En complément de cette activité, la plateforme propose également un service de clonage des séquences d'intérêt dans les plasmides navettes ainsi que la transduction des lignées d'intérêt. Plusieurs plasmides navettes sont proposés par la plateforme permettant l'expression de cDNA ou de ShRNA de manière constitutive ou inducible avec expression ou non de gènes rapporteurs ou de gènes de sélections.
- Les lots de vecteurs proposés sont destinés à une utilisation dans le cadre de projets de recherche fondamentale et/ou dans l'élaboration de preuves de concept chez le petit animal. Ils peuvent être utilisés pour réaliser du transfert de gènes *in cellulo*, *ex vivo* ou *in vivo*. Les vecteurs que nous produisons sont considérés comme des Organismes Génétiquement Modifiés (OGM) de classes de confinement 2 ou 3 selon la nature de l'insert. Ils sont produits dans des conditions réglementaires et répondent aux normes de biosécurité.
- La plateforme de vectorologie met également la zone confinée à la disposition des équipes de recherche du CRCT qui souhaitent réaliser leurs propres productions. Cette mise à disposition est soumise aux conditions suivantes : - Formation obligatoire dispensée par le personnel permanent de la plateforme de tous les nouveaux utilisateurs – Obtention d'un numéro d'agrément de l'équipe utilisatrice – Copie de déclaration OGM

I. **Présentation du laboratoire confiné L3 du CRCT :**

1. Principe du confinement :

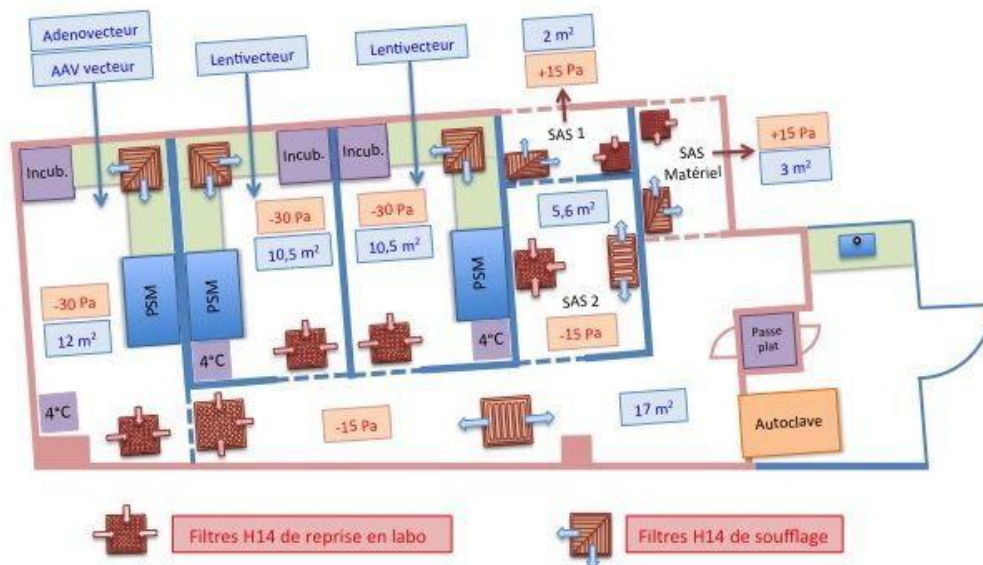
- Ce laboratoire de sécurité biologique de classe de confinement 3 permet la manipulation d'agents potentiellement pathogènes pour l'homme dans des conditions optimales de sécurité pour le manipulateur et l'environnement.
- La protection du manipulateur contre le risque biologique repose sur l'application des points suivants :
 - Le port d'un équipement de protection individuel (EPI),
 - La manipulation sous un poste de sécurité microbiologique de type II (PSM II),
 - La connaissance et le respect des procédures de travail spécifiques,
 - La connaissance et l'application de procédures d'urgences en cas d'accident,
- La protection de l'environnement contre le risque biologique repose sur différents points :
 - La manipulation dans des locaux en dépression par rapport à l'extérieur,
 - La présence de SAS en surpression par rapport aux zones de manipulation,
 - Le traitement de l'air entrant et sortant sur filtres absolus HEPA,
 - L'utilisation d'un autoclave double-entrée pour l'inactivation des déchets,
 - L'application d'une procédure de décontamination aérienne des locaux confinés,
 - L'équipement spécifique de chaque laboratoire de production.

Charte de Fonctionnement du Pôle Technologique du CRCT

	Plateau de Vectorologie	
	Règlement Intérieur Version Janvier 2016	

1. Organisation de la zone confinée :

- La surface totale de la zone confinée représente environ 60 m².
- La zone confinée comprend :
 - Deux SAS d'**accès pour le personnel** :
 - Un 1^{er} SAS de 2 m² (défini comme "SAS 1") en surpression par rapport à l'extérieur de +15 Pa,
 - Un 2^{ème} SAS de 5,6 m² (défini comme "SAS 2") en dépression de -15 Pa,
 - Un SAS d'**accès pour le gros matériel** de 3 m² (défini comme "SAS Matériel") en surpression de +15 Pa,
 - Un couloir de desserte de 17 m² en dépression de -15 Pa,
 - Trois **laboratoires de production** entre 11 et 12 m² qui sont en dépression de - 30 Pa par rapport à l'extérieur.
 - Un passe-plat pour l'**accès du petit matériel**.
- Deux des laboratoires de production sont dédiés à la production/manipulation de lentivecteurs. L'un de ces laboratoires est équipé d'une ultracentrifugeuse et doit être utilisé en priorité pour la production des lots concentrés de lentivecteurs.
- Le troisième laboratoire est dédié à la production de vecteurs de type AAV et Adénoviral.



Charte de Fonctionnement du Pôle Technologique du CRCT

	Plateau de Vectorologie	
	Règlement Intérieur Version Janvier 2016	

- Chaque laboratoire de production est entièrement équipé de son propre matériel, à savoir :
 - Un PSM de type II équipés de filtres hautes performances H.E.P.A.,
 - Un système d'aspiration autonome des liquides biologiques,
 - Un ou deux incubateurs à 37°C et 5% de CO₂,
 - Un grand réfrigérateur pour le stockage des milieux de cultures et autres réactifs,
 - Un mini congélateur -20°C,
 - Un bain-marie réglable en température,
 - Un microscope inversé à fluorescence (compatibilité fluorophores : voir annexe I),
 - Une centrifugeuse réfrigérée équipée de godets étanches,
 - Un compteur de cellules,
 - Un jeu de micropipettes,
 - Un pipette-aid,
 - Une bombonne d'alimentation en eau,
 - Un micro-vortex
 - Une microcentrifugeuse
 - Une balance (précision au mg).
 - Un téléphone
- La zone confinée est également équipée :
 - D'une ultracentrifugeuse localisée dans le laboratoire central de production. L'ultracentrifugeuse peut être utilisée pour la concentration des lentivecteurs et la purification sur gradient de césium des vecteurs AAV et Adénoviral. Elle est équipée d'un rotor à godets mobiles SW32Ti autorisant une vitesse de rotation maximum de 32.000 rpm. Deux jeux de godet équipent le laboratoire ; l'un est spécifique des lentivecteurs (contenance : 38ml/godet), l'autre est spécifique des vecteurs AAVs et des Adénovecteurs (contenance : 13ml/godet). Chaque jeu de godet est stocké dans le laboratoire dédié correspondant à son utilisation. Le P3 dispose également d'un rotor à angle fixe 70.1Ti dédié à la purification des AAV et adénovirus, autorisant une vitesse de rotation maximum de 70.000rpm.
 - D'un autoclave double-entrée pour le traitement des déchets biologiques à risque infectieux (DASRI). Seules les personnes permanentes de la plateforme ayant l'habilitation sont autorisées à le conduire. Les procédures d'utilisation de l'autoclave, de traitement des déchets ainsi que la liste des personnes habilitées et formées sont affichées à côté de l'autoclave.

1. Description des principaux éléments techniques et de sécurité du Laboratoire :

- La zone confinée L3 est pourvue d'un système de ventilation « tout air neuf » et de climatisation dont l'armoire de commande se situe dans le plenum. L'air entrant et sortant de cette zone est traité par filtre H.E.P.A. L'air extrait est évacué à l'extérieur après double filtration absolue.
- Des cascades de pressions différentielles sont maintenues entre les différentes pièces du laboratoire L3. Afin de maintenir ces différentiels de pression, il est important de garder les portes fermées. Toute détection de défaut de pression entraîne une mise en alarme de la centrale d'air.
- Chaque pièce de la zone confinée est équipée de détecteurs de pression. Les valeurs de pression effectives de chaque pièce sont visibles au dessus de la porte d'accès au 1^{er} SAS, sur des afficheurs

Charte de Fonctionnement du Pôle Technologique du CRCT

	Plateau de Vectorologie	
	Règlement Intérieur Version Janvier 2016	

- digitaux. En cas de défaut dans les différentiels de pression, un gyrophare orange présent dans chaque laboratoire de production clignote. En cas d'arrêt de la centrale, un gyrophare rouge présent dans chaque laboratoire de production clignote.
- La zone confinée est équipée d'un détecteur de fumée et d'une sirène incendie tout deux localisés dans le couloir de desserte. L'alarme incendie se déclenche en cas de départ de feu dans la zone confinée ou dans le bâtiment.
- Les centrales d'air (CTA) de soufflage et d'extraction sont équipées de clapets coupe-feu. Ces clapets sont sensibles à la chaleur (fermeture automatique) et peuvent être fermés en situation de départ de feu dans la zone confinée.



- Le laboratoire dispose de portes coupe-feu équipées de fenêtre d'observation. Les portes des différents SAS sont asservies évitant ainsi l'ouverture de deux portes du même SAS simultanément. Cet asservissement assure le maintien des différentiels de pression lors de l'ouverture/fermeture des portes d'accès à la zone. Chacune de ces portes s'ouvre par déverrouillage du système de fermeture en appuyant sur le bouton blanc situé à droite de la porte.
- Les portes de chaque SAS sont équipées de boutons manuels de déverrouillage d'urgence. Ces boutons peuvent être activés lorsqu'un manipulateur se trouve coincé dans un SAS suite à un défaut de fonctionnement du système de verrouillage. En cas d'incendie dans la zone, le déverrouillage automatique s'enclenche.
- Plusieurs extincteurs sont localisés à l'étage et à proximité du P3. Deux extincteurs sont présents en zone confinée. Ils sont vérifiés annuellement.
- L'intérieur des trois laboratoires de production est visible de l'extérieur grâce à des fenêtres d'observation.

Charte de Fonctionnement du Pôle Technologique du CRCT

	Plateau de Vectorologie	
	Règlement Intérieur Version Janvier 2016	

- Un système de contrôle d'accès par badge permet l'ouverture des portes d'accès à la zone confinée (porte d'accès au 1^{er} SAS et porte d'accès au SAS Matériel). Ces badges sont nominatifs. Le paramétrage des badges pour permettre l'accès à la zone confinée est soumis à l'autorisation du responsable de la plateforme de vectorologie. Cette activation n'est possible que si l'utilisateur a été préalablement formé par un personnel permanent du plateau, aux procédures spécifiques de travail en zone confinée
- La fermeture de registres couplée à l'arrêt de la ventilation permet d'isoler la zone confinée pour procéder à la décontamination par nébulisation. Les murs, le sol et les plafonds sont en matériaux résistants aux désinfectants et facile à nettoyer. La surface des paillasse est imperméable à l'eau et résistante aux acides, alcalins, solvants et désinfectants.
- La signalisation "internationale" de risque biologique est apposée sur toutes les portes d'accès à la zone confinée L3 (porte d'entrée du personnel, porte d'entrée du SAS matériel et porte du passe-plat).
- Chaque laboratoire de production est équipé d'un téléphone permettant la communication entre l'utilisateur présent dans la zone confinée L3 et les personnels de la plateforme/pôle technologique présents sur site. En outre, la liste détaillant les noms, les fonctions et les numéros de poste des personnes ressources est affiché dans chaque laboratoire de production.
- Les principales consignes de sécurité sont affichées dans les sas et dans chaque laboratoire de production (procédures d'entrée/sortie, liste des personnes ressources et numéros de téléphone en cas d'urgence, conduite à tenir en cas d'accident, ...etc.).
- Un registre « santé et sécurité » est disponible au niveau du pôle technologique pour noter tout événement et/ou incident/accident ayant eu lieu dans la zone confinée.

I. Modalités d'accès à la zone confinée L3 :

1. Conditions générales d'accès:

- Les deux laboratoires de la zone confinée L3, dédiés à la production de lentivecteur, sont accessibles, sous certaines conditions, à l'ensemble du personnel de recherche du CRCT.
- Les étudiants en M2 et les doctorants sont autorisés à travailler en autonomie dans la zone confinée lorsque le responsable du plateau se sera assuré, après une période de travail accompagné, que ces utilisateurs suivent les bonnes pratiques (procédures) décrites dans le présent règlement intérieur.
- Concernant les stagiaires de courte durée (< 6 mois), l'accès à la zone confinée n'est autorisé que s'ils sont accompagnés de leur encadrant ayant lui-même une autorisation d'accès au L3. En revanche, ces stagiaires ne sont pas autorisés à manipuler en zone confinée.
- Un formulaire d'autorisation d'accès à la zone confinée L3, engageant la responsabilité de chaque partie, devra être préalablement co-signé par l'utilisateur (stagiaire, étudiant, personnel statutaire, etc...), le responsable d'équipe, le directeur du centre, le responsable du pôle technologique et le responsable de la plateforme de vectorologie (cf annexes)

Charte de Fonctionnement du Pôle Technologique du CRCT

	Plateau de Vectorologie	
	Règlement Intérieur Version Janvier 2016	

- La zone confinée est accessible uniquement les jours ouvrables, du lundi au vendredi de 9h00 à 18h00 à l'exception du vendredi où la plateforme ferme à 17h. L'accès à la zone confinée n'est pas autorisé le week-end et les jours fériés, le statut de travailleur isolé y étant formellement interdit.
- La manipulation de tout autre type de vecteur doit faire l'objet d'une demande spécifique auprès de la plateforme de vectorologie afin d'étudier la faisabilité du projet.

1. Tarification :

- L'utilisation de la zone confinée est soumise à un tarif horaire qui est défini par le personnel de la plateforme et révisé chaque année. Ce coût est estimé sur la base du prix des consommables plastiques de base, du coût des maintenances et de l'amortissement de l'ensemble du matériel et du temps d'utilisation de la zone confinée de l'année précédente.
- Pour la facturation, le temps passé dans le P3 par chaque utilisateur est défini sur la base des horaires notés par l'utilisateur sur le cahier d'entrée/sortie de la zone confinée.
- En cas d'annulation trop fréquente de réservation par le même utilisateur, la plateforme se réserve le droit de facturer les heures réservées non utilisées sur la base des réservations réalisées sur le site OBM.
- En cas de retard trop fréquent par rapport à l'heure de début de réservation d'un utilisateur, la plateforme se réserve le droit de calculer le temps d'occupation sur la base de l'heure de début de réservation indiquée sur le site OBM.
- En cas de dépassement imprévu du créneau horaire, l'utilisateur en zone se doit d'informer le personnel de la plateforme pour que ces derniers informent les utilisateurs suivants.

2. Accès Réglementé :

L'accès à la zone confinée L3 est réglementé :

- **Numéro d'agrément** : Chaque utilisateur doit fournir au responsable du plateau le numéro d'agrément de son équipe de recherche.
- **Déclaration d'utilisation d'OGMs** : Chaque utilisateur doit fournir au responsable du plateau une copie de la déclaration qui concerne les OGMs produits et/ou manipulés dans la zone confinée.
- **Règlement intérieur** : Les nouveaux utilisateurs doivent lire et connaître le règlement intérieur de la plateforme de vectorologie. Ils doivent remettre au responsable de la plateforme, l'attestation d'acceptation du présent règlement signée.
- **Formation** : Les nouveaux utilisateurs doivent suivre au préalable la formation au travail en zone confinée de type L3 assurée exclusivement par un personnel permanent du plateau.
- **Procédures** : L'utilisateur doit connaître et appliquer l'ensemble des **procédures** de travail et les conduites à tenir en cas d'incident dans zone confinée L3.

Charte de Fonctionnement du Pôle Technologique du CRCT

	Plateau de Vectorologie	
	Règlement Intérieur Version Janvier 2016	

- Lorsque ces conditions sont réunies, le responsable de la plateforme fournit au nouvel utilisateur une **autorisation d'accès** signée par le directeur du centre, le responsable d'équipe, le responsable du pôle technologique et le responsable de la plateforme de vectorologie.

- Le badge du nouvel utilisateur est activé pour lui permettre l'accès à la zone confinée L3.

Remarque : Le responsable de la plateforme se réserve le droit de retirer cette autorisation à tout utilisateur ne respectant pas le présent règlement intérieur ainsi que l'ensemble des consignes de travail en zone confinée.

1. L'accès au quotidien :

- **Réservation :** Les laboratoires de production ainsi que l'utilisation de l'ultracentrifugeuse sont soumis à réservation via le site OBM (<http://crct-grr/login.php>). Toute réservation doit être faite 7 jours minimum avant le début des expérimentations. En cas d'annulation de réservation, l'utilisateur concerné devra informer le personnel de la plateforme au plus tard la veille de la dite réservation.

Les différentes ressources sont :

- ✓ CRCT-PLT-L3-box-Vecteur_NC (pour les vecteurs non concentrés)
- ✓ CRCT-PLT-L3-box-Lentivecteur/ult (pour les vecteurs concentrés – box avec ultracentrifugeuse)
- ✓ CRCT-PLT-L3-box-Adeno/AAV (box réservé aux AAV et Adénovirus)
- ✓ CRCT-PLT-L3-ultracentrifugeuseP3 (pour la réservation de l'ultracentrifugeuse).

- **Informé :** L'entrée en zone confinée n'est autorisée que si un personnel du pôle technologique est présent sur site ET si un personnel statutaire de la plateforme de vectorologie est joignable par téléphone.

- **Prévoir sa manipulation :** L'utilisateur doit s'assurer que le matériel nécessaire à ses propres manipulations est présent dans la zone confinée (milieux de culture, réactifs, matériels spécifiques, etc...). Dans le cas contraire, disposer le matériel manquant dans le passe-plat en suivant la procédure en vigueur d'entrée de matériel.

- **Signaler sa présence :** Toute présence en zone doit être matérialisée par l'affichage du badge nominatif sur le tableau mural situé à droite de la porte d'entrée du 1^{er} SAS.

- **Se noter :** L'entrée de toute personne en zone confinée doit être notée sur le cahier « entrée et sortie » en précisant la date, son nom et prénom, l'équipe d'appartenance, l'heure d'entrée et de sortie, le nom de(s) insert(s) manipulés, le nom des cellules en cours de culture, le type de manipulation réalisée et, ceci, de manière claire et lisible.

- **Procédures :** L'utilisateur suit les procédures d'entrée en zone confinée qui sont affichées dans chaque SAS.

Charte de Fonctionnement du Pôle Technologique du CRCT

	Plateau de Vectorologie	
	Règlement Intérieur Version Janvier 2016	

1. Remarques :

- **Effets personnels :** Les effets personnels du type bijoux, montres et téléphones portables ne sont pas autorisés en zone confinée. Ils peuvent être entreposés au niveau du 1^{er} SAS pendant la durée de la manipulation.
- **Les lunettes de vue** sont acceptées en zone confinée en remplacement des lunettes de protection mise à disposition. Dans ce cas, elles doivent être nettoyée au niveau du 2^{ème} SAS à l'aide de la lotion nettoyante antiseptique et, ce, en entrant et en sortant de la zone confinée.
- **Surveillance médicale :** Chaque utilisateur doit être suivi médicalement. Une visite annuelle auprès du médecin de prévention est obligatoire avec signalement des conditions de travail (locaux en dépression, zone confinée, manipulation de vecteurs d'origine virale),
 - En cas de grossesse déclarée, l'accès à la zone est soumis à l'autorisation du médecin de prévention,
 - En cas d'infection virale ou bactérienne, le travail en zone L3 est déconseillé.

I. **Consignes générales de manipulation en zone :**

1. Le matériel :

- **Consommables :** Chaque laboratoire de production est équipé de tout le matériel nécessaire pour la culture cellulaire. La plateforme fournit tout le consommable plastique (cônes filtrés, pipettes, Flasks, tubes,...etc.). Un petit stock de consommables se trouve sur l'étagère située dans le couloir de la zone confinée. En cas de rupture de stock d'un consommable, contactez le personnel de la plateforme. Pour limiter les risques de contamination, l'utilisation de boîtes de Pétri et de flacons ventilés est interdite dans la zone confinée. L'usage de plaque de culture est autorisé pour les étapes de transduction ; dans ce cas, les plaques doivent être impérativement entreposées à l'étage bas de l'incubateur.
- **Réactifs de culture :** Tous les éléments liquides nécessaires aux manipulations (milieux, PBS, Trypsine, agent de transfection, plasmides, ...) sont à la charge de l'utilisateur. Un réfrigérateur est présent dans chaque laboratoire de production pour leurs stockages. Les solutions stockées en zone doivent être clairement identifiées (nom du produit, nom du de l'utilisateur et date de première utilisation).
- **Contenants :** Les contenants de liquides doivent être exclusivement en plastique. Le matériel et les bouteilles en verre sont interdits en zone confinée à l'exception des fioles contenant les acides aminés non essentiels et les fioles du kit Innotest.
- **L'entrée du « petit matériel »** se fait uniquement par le passe-plat selon la procédure affichée. Ce matériel doit être décontaminé par pulvérisation de désinfectant « desogermex virex ». Pour le transfert d'échantillon sensible à la chaleur, un bac isotherme propre est disponible en permanence dans le passe-plat afin d'éviter toute utilisation de bac polystyrène provenant de l'extérieur. L'introduction de cahier de laboratoire et autres bloc-notes est interdit. Seule l'entrée de feuilles (ex. : protocoles) sous plastique scellé est autorisée.

Charte de Fonctionnement du Pôle Technologique du CRCT

	Plateau de Vectorologie	
	Règlement Intérieur Version Janvier 2016	

- **Les cellules** entrant en zone confinée doivent être garanties non mycoplasmées. Le responsable de la plateforme se réserve le droit de demander une copie du test mycoplasme aux utilisateurs. Un test de détection de mycoplasmes peut être effectué à l'Institut Fédératif de Biologie (IFB) à Purpan.

1. Les E.P.I. :

Les utilisateurs doivent revêtir un Equipement de Protection Individuel (**E.P.I.**) au niveau du 2^{ème} SAS d'accès à la zone confinée.

- **La combinaison intégrale TYVEK** peut être utilisée pendant 15 jours maximum (en fonction de la fréquence d'utilisation). Le nom et la date de mise en service doivent être notés sur la combinaison lors de sa première utilisation. Des patères sont présentes dans le 2^{ème} SAS pour entreposer les combinaisons des utilisateurs.
- **Les gants** : le port de 2 paires de gants est obligatoire au sein de l'enceinte confinée. La 1^{ère} paire de gants en nitrile orange est à garder pendant toute la durée de la présence en zone. La 2^{ème} paire de gant en nitrile blanc est à changer régulièrement. Elle doit être systématiquement changée lors de la sortie des mains du PSM, avant toute sortie du box de production, en cas de suspicion de contamination ou pour répondre au téléphone.
- **Masque** : Le port d'un masque FFP2 jetable est obligatoire. Il protège des potentiels aérosols qui peuvent se former lors des expérimentations. Il est à usage unique.
- **Lunettes de protection** : Le port de lunette de protection est obligatoire pendant toute la durée de la présence en zone. Elles protègent les yeux contre d'éventuelle projection de liquides biologiques. Des lingettes sont disponibles dans le 2^{ème} SAS pour leur nettoyage régulier.
- **Surbottes** : Elles se mettent par dessus les sabots et la combinaison. Elles sont à usage unique.

2. La circulation dans la zone confinée :

- Les portes des SAS d'entrée du personnel sont asservies. Il est donc impératif que l'utilisateur veille à la bonne fermeture de la porte qu'il vient de franchir.
- L'ouverture et la fermeture des portes et les déplacements dans la zone confinée doivent se faire de façon calme et posée afin de limiter la perturbation des flux d'air. La précipitation est à proscrire en zone confinée ; elle est source d'accident !
- Toutes les portes de la zone confinée doivent être maintenues fermées. Il est impératif de ne pas maintenir une porte ouverte afin de garantir le maintien du différentiel de pression entre les différentes pièces. Garder une porte ouverte pendant plusieurs secondes peut entraîner une mise en défaut et l'arrêt de la centrale d'air et par conséquent l'arrêt de toutes manipulations en zone.
- Pendant les phases expérimentales, la circulation dans la zone confinée doit être limitée autant que possible. Par conséquent, avant de commencer toute manipulation, préparer votre expérience et vérifier que tout le consommable dont vous avez besoin est bien disponible dans le laboratoire de production.
- Chaque laboratoire est dédié à la production d'un type de vecteur et est équipé de son propre matériel. Ce matériel est identifié par un code couleur spécifique à chacun des laboratoires ; en aucun cas, il ne doit être

Charte de Fonctionnement du Pôle Technologique du CRCT

	Plateau de Vectorologie	
	Règlement Intérieur Version Janvier 2016	

- échangé ou transféré d'un laboratoire à l'autre. En cas de matériel défaillant, contacter le personnel du plateau.
- Un gyrophare lumineux orange ou rouge clignote en cas de défaut dans les différentiels de pressions ou en cas d'arrêt inopiné de la centrale de traitement d'air. Dans ce cas, la circulation dans la zone confinée est interdite. Restez dans le laboratoire de production et contactez le personnel de la plateforme qui vous dictera la conduite à tenir.
- En cours d'expérimentation, le nombre maximum de personnes autorisé dans le box de productions est limité à deux. Dans le cadre de la formation à l'utilisation de la zone confinée, le nombre est exceptionnellement porté à trois incluant le formateur de la plateforme de vectorologie.

1. Manipulation dans le laboratoire de production :

Le manipulateur doit connaître et de respecter l'ensemble des procédures mise en place par le personnel permanent de la plateforme de vectorologie. Ces procédures décrivent les bonnes pratiques de manipulation dans les laboratoires de production mais également les conduites à tenir en cas d'accident ou de situation d'urgence (contaminations hors PSM, accidents, arrêt de fonctionnement du PSM ou de la centrale d'air,....etc.)

1.1. Avant l'expérimentation :

- **Déchets solides** : Vérifier le niveau de remplissage des poubelles hors PSM et sous PSM (Sharpsafe®).
- **Déchets liquides** : Dans la bouteille de récupération des liquides biologiques, vérifier que le niveau n'a pas dépassé le repère maximum de remplissage, auquel cas, changez-la.
- **Décontaminant chimique** : préparer la solution de décontamination des pipettes et cônes dans la colonne (désogermes microchoc 2% final), vérifier le niveau de remplissage du décontaminant en spray et la présence de lingettes décontaminantes.
- **Consommables** : Placer sous le PSM, l'ensemble du matériel et du consommable dont vous avez besoin pour votre expérimentation (Flasks, pointes à filtres, pipettes, tubes, milieux de culture, trypsine, PBS,etc.)

1.2. Pendant l'expérimentation, sous le PSM :

- Les gestes réalisés sous le PSM doivent être calmes, posés et précis. La précipitation peut être source d'accident et les gestes rapides perturbent le flux du PSM.
- Eviter autant que possible la formation d'aérosol.
- la sécurité du manipulateur est assurée par une barrière aéraulique au niveau de la veine de garde du PSM : il faut veiller à ne pas encombrer cette zone et à travailler le plus loin possible à l'intérieur du PSM.
- Pour votre propre sécurité, organisez votre plan de travail et éviter l'encombrement de cette surface afin de ne pas perturber la « laminarité » du flux d'air du PSM.
- Travailler assis sur un tabouret haut de façon à avoir le visage situé face à la vitre frontale de protection du PSM et bien au-dessus de l'ouverture du passage des mains.

Charte de Fonctionnement du Pôle Technologique du CRCT

	Plateau de Vectorologie	
	Règlement Intérieur Version Janvier 2016	

- Le changement de la première paire de gant est obligatoire à chaque sortie des mains du PSM. Lors de l'expérimentation, il est donc important de limiter la fréquence de sortie des mains du PSM en préparant, avant l'expérimentation, le matériel nécessaire.
- La colonne de décontamination placée sous le PSM est uniquement destinée à la décontamination par trempage des pipettes et des cônes. En aucun cas, des liquides biologiques ne doivent y être versés.
- Avant d'être jetés dans la poubelle « déchets solides » hors du PSM, les flacons de culture et les tubes doivent être exempts de tout reste de liquides biologiques. Pour cela, aspirer les reliquats de milieux avec le système d'aspiration sous PSM. Les tubes et flacons de culture doivent ensuite être décontaminés chimiquement intérieurement et extérieurement avant d'être jetés dans la poubelle solide hors PSM (voir procédure).
- En cas de renversement accidentel de milieux ou de produit potentiellement contaminé sous le PSM, appliquer immédiatement la procédure « conduite à tenir en cas de contamination de surface sous le PSM ».

1.1. Consigne pour la centrifugation :

- Utiliser des tubes capables de supporter la force centrifuge appliquée lors de la centrifugation.
- Ne pas remplir les tubes à centrifuger au plus des 2/3 de leur capacité.
- Vérifier systématiquement l'équilibrage de l'ensemble des tubes à l'aide de la balance de pesée
- Les tubes à centrifuger sont placés dans les godets (équipés des adaptateurs adéquats) sous le PSM. Les godets sont fermés hermétiquement à l'aide de leurs dômes de sécurité, puis décontaminés sous le PSM avant d'être placés dans la centrifugeuse. (Voir procédure)
- placer les nacelles contenant les tubes de façon diamétralement opposée dans la centrifugeuse.
- En fin de centrifugation, retirer les godets fermés de la centrifugeuse et les placer sous le PSM. Retirer les dômes de sécurité et récupérer vos tubes. Garder les godets sous le PSM pendant le reste de la manipulation.

1.2. En fin d'expérimentation :

- Égoutter et transférer l'ensemble des pipettes en cours de trempage dans la colonne de décontamination dans la poubelle jaune (type Sharpsafe®) sous le PSM.
- décontaminer l'ensemble du matériel présent sous le PSM (micropipettes, pipet'aid®, portoir, boîtes de pointes, poubelle jaune, colonne, godets,...) selon la procédure.
- décontaminer la surface du plan de travail et les parois internes du PSM à l'aide de lingettes décontaminantes
- Mettre en charge la batterie du Pipet'aid® si nécessaire.

Charte de Fonctionnement du Pôle Technologique du CRCT

	Plateau de Vectorologie	
	Règlement Intérieur Version Janvier 2016	

- Après changement de la première paire de gant, rangez l'ensemble du matériel utilisé et décontaminé.
- Nettoyer à l'aide de lingettes décontaminantes/détergentes les surfaces des paillasse et les équipements utilisés lors de l'expérimentation (porte de l'incubateur, bain-marie, microscope, centrifugeuse, rotor de l'ultracentrifugeuse,...). Pour la centrifugeuse, essuyez également la cuve et le couvercle (face interne) et laisser le capot de la centrifugeuse totalement ouvert afin d'éviter la condensation.
- Changez et évacuez les poubelles de déchets si celles-ci sont pleines (poubelle solide jaune sous PSM), au 2/3 pleine (poubelle solide hors PSM), poubelle liquide (si le niveau max de remplissage est atteint) selon la procédure décrite.
- Vérifiez que les appareils du laboratoire sont éteints (centrifugeuse, microscope, bain-marie, pompe à vide) et que les portes des frigos et congélateurs sont bien fermées
- Si nécessaire, évacuez les poubelles du laboratoire de production selon la procédure décrite et entreposez les au pied de l'autoclave.

5. Sortie d'échantillons :

- La sortie de cellules transduites ou de vecteurs de la zone confinée L3 (lentivecteurs ou AAV) doit être consignée dans le registre « entrées/sorties » en précisant le nom du manipulateur, la date, le type de vecteur et le nom de l'insert.
- Le transfert d'OGM de classe de confinement 2 au sein du bâtiment doit respecter la règle du triple emballage. Le triple emballage consiste à placer le cryotube ou la Flask (= emballage primaire) dans une poche plastique étanche (à zip) contenant du papier absorbant (emballage secondaire). Une boîte de transport étanche (triple emballage) localisé près du SAS 'petit matériel' est mise à disposition des utilisateurs pour le transfert vers leur laboratoire L2. Elle doit être remise à sa place après chaque utilisation.
- Le transfert d'OGM de classe de confinement 2 hors du bâtiment doit respecter la règle du triple emballage. Dans ce cas, un emballage commercial type P650 doit être utilisé. Dans ce cas, un véhicule de service ou un prestataire de service doit être utilisé pour le transport par voie routière (cf. « envoi des matières infectieuses de catégorie B » mis en annexe du règlement intérieur).

6. Conservation des échantillons

- Les surnageants de lentivecteurs, qu'ils soient non concentrés, semi concentrés ou concentrés, doivent être impérativement aliquotés dans des cryotubes avec bouchons coiffants munis de joints. Tous les tubes doivent être étiquetés avec les informations suivantes : nature du vecteur, nom de l'insert, date de production et nom du manipulateur.
- les cryotubes de cellules congelées transduites par un ou plusieurs lentivecteurs doivent être identifiés et porter les informations suivantes : nom des cellules, nature du vecteur, nom de l'insert, classe de confinement, date de congélation, nom du propriétaire.
- Un congélateur -80°C dédié à la conservation des aliquots de vecteurs viraux recombinants produits au sein de la plateforme de vectorologie est mis à disposition de tous les utilisateurs sous certaines conditions :
 - ❖ Le rangement des tubes dans le congélateur est géré par le personnel de la plateforme.

Charte de Fonctionnement du Pôle Technologique du CRCT

	Plateau de Vectorologie	
	Règlement Intérieur Version Janvier 2016	

- ❖ A l'issue de chaque campagne de production, les utilisateurs doivent informer par mail le responsable de la plateforme du nombre de tubes entreposés dans le congélateur, de la nature des vecteurs et des inserts, de la date de production et de la localisation (étage, rack, tiroir, couleur boîte).
- ❖ Les utilisateurs doivent informer par mail le responsable de la plateforme du nombre de tubes qui sont prélevés dans le congélateur en précisant le nom du vecteur et son emplacement.
- ❖ Pour des impératifs réglementaires, un fichier décrivant le contenu exact en OGM de ce congélateur est tenu à jour régulièrement par le personnel de la plateforme.
- ❖ En cas de non respect de ces règles de fonctionnement par un utilisateur, le responsable de la plateforme se réserve le droit de restreindre l'accès à ce congélateur.

I. Conduites à tenir en cas d'incident ou d'accident :

Dans tous les cas, tous les incidents/accidents doivent être consignés dans le registre « hygiène et sécurité » du pôle technologique.

1. En cas de défaut dans les différentiels de pression :

- Tout défaut de différentiel de pression au niveau de la zone confinée est matérialisé par un gyrophare orange clignotant situé au niveau de chaque laboratoire de production et au dessus de la porte de sortie du 2^{ème} SAS.
- Tout arrêt de la centrale d'air est matérialisé par un gyrophare rouge clignotant situé dans chaque laboratoire de production et au dessus de la porte de sortie du 2^{ème} SAS.
- En cas de gyrophare clignotant orange ou rouge, contactez immédiatement le personnel de la plateforme qui vous donnera la conduite à tenir.
- Toute circulation dans la zone confinée est alors interdite afin d'éviter toute rupture de confinement.

2. En cas de déclenchement de l'alarme incendie :

- En cas d'incendie dans le bâtiment, une sirène située dans le couloir de la zone confinée se déclenche.
- Confinez si possible le matériel biologique en cours de manipulation
- Evacuez la zone confinée selon la procédure habituelle
- Informez le responsable de la plateforme et le serre-fil de votre sortie de la zone confinée L3
- Evacuez le bâtiment par les sorties de secours
- Rejoignez le point de rassemblement

3. En cas d'incendie dans la zone confinée :

- En cas de départ de feu dans le L3 :
 - ❖ Si le feu est jugé maîtrisable et si vous êtes formé à l'utilisation des extincteurs, utilisez les extincteurs présents en zone confinée pour intervenir sur le feu
 - ❖ Si le feu est jugé non maîtrisable, évacuez la zone confinée avec les autres utilisateurs selon la procédure habituelle.
- Informez immédiatement le personnel de la plateforme ou le serre-fil de votre sortie.
- La conduite à tenir en cas d'incendie est décrite en fin du règlement intérieur et consultable dans chaque laboratoire de production.

Charte de Fonctionnement du Pôle Technologique du CRCT

	Plateau de Vectorologie	
	Règlement Intérieur Version Janvier 2016	

1. En cas de défaillance du système de verrouillage des portes des SAS :

- Les portes des deux sas d'accès à la zone confinée sont asservies. Elles ne peuvent donc pas s'ouvrir en même temps. Il faut impérativement vérifier la fermeture de chaque porte après son passage.
- En cas d'impossibilité d'ouvrir la porte d'un SAS, vérifiez, en premier lieu, que les autres portes des SAS sont bien fermées.
- Si vous êtes dans l'impossibilité de sortir de la zone confinée, contactez le personnel de la plateforme à l'aide des téléphones situés dans les laboratoires de production.
- Si vous êtes bloqué dans un SAS avec impossibilité de contacter le personnel de la plateforme, appuyer sur le bouton vert 'déverrouillage d'urgence' situé à droite de la porte. Informez immédiatement le personnel de la plateforme une fois sortie de la zone confinée.

2. En cas de malaise :

- L'intérieur des laboratoires de production et des SAS sont visibles de l'extérieur grâce à des fenêtres d'observation.
- En cas de malaise léger, si la personne peut se déplacer, celle-ci est conduite dans le 2^{ème} SAS où elle est débarrassée de ses E.P.I dans l'attente des secours (SAMU, pompier).
- En cas de malaise plus grave,
 - ❖ si la personne est transportable, celle-ci est emmenée dans le sas matériel, débarrassée de sa combinaison dans l'attente des secours (pompier, SAMU, médecin).
 - ❖ si la personne n'est pas transportable, des tenues complètes sont disponibles en permanence pour une intervention des secours en zone confinée (pompiers, SAMU, médecin).

3. En cas d'exposition à des produits biologiques :

- Suivre les instructions de la plaquette INSERM.
 - ❖ En cas de coupure, piqure ou contact sur la peau, retourner dans le 2^{ème} SAS selon la procédure habituelle et suivez les instructions de la plaquette INSERM affichée.
 - ❖ En cas de projection dans l'œil, un rince-œil est disponible dans chaque laboratoire. Changer votre première paire de gant et suivez les instructions de la plaquette INSERM affichée au dessus de la cuve du laboratoire de production
- **N.B.** : Aucun objet tranchant n'est toléré dans la zone confinée à l'exception des aiguilles du récupérateur de fraction.
- **N.B.** : Le port des EPI est obligatoire pendant toute la durée de présence en zone (lunette, gants, combinaison)

Charte de Fonctionnement du Pôle Technologique du CRCT

	Plateau de Vectorologie	
	Règlement Intérieur Version Janvier 2016	

I. Décontamination, nettoyage et gestion des déchets :

1. Principe général :

- Dès leur production, tous les déchets solides et liquides sont traités chimiquement par l'expérimentateur, puis inactivés par autoclavage par le personnel habilité de la plateforme avant leur sortie du L3 et leur évacuation en DASRI par une société spécialisée.
- Chaque manipulateur est donc tenu de suivre les procédures de décontamination systématique du PSM, du matériel utilisé, des surfaces du laboratoire et de tous les déchets générés lors des expérimentations.

2. Décontamination :

- Tous les déchets solides doivent être systématiquement traités chimiquement par contact avec du désinfectant soit sous forme de spray soit sous forme de lingettes désinfectantes.
- Les pipettes d'aspiration et les cônes doivent être systématiquement traités chimiquement sous PSM par trempage dans une solution désinfectante (colonne de décontamination) avant d'être placé dans le conteneur jaune(Sharpsafe®).
- Tous les déchets liquides doivent être aspirés directement sous PSM grâce au système d'aspiration autonome. Ce système d'aspiration des liquides est relié à un flacon en verre sécurisé qui contient du décontaminant concentré désogérme microchoc.
- En aucun cas, les déchets solides (Flasks, tubes,...) ne doivent contenir des déchets liquides.
- Le PSM et l'ensemble du matériel présent sous le PSM (micropipettes, pipet'aid®, portoir, poubelle jaunes, colonne) doivent être décontaminés par la manipulateur à la fin de chaque expérimentation.
- Le changement des poubelles de déchets solides si celles-ci sont pleines (poubelle solide jaune sous PSM) ou au 2/3 pleine (poubelle solide hors PSM) est à la charge de l'utilisateur. Après leur fermeture hermétique, l'utilisateur entrepose les poubelles dans le couloir de desserte, au pied de l'autoclave.
- Le changement systématique des flacons en verre du système d'aspiration des liquides biologiques est réalisé en fin de semaine par le personnel permanent de la plateforme. L'utilisateur doit cependant tenir informer le personnel de la plateforme lorsque la limite maximum de remplissage de la bouteille est atteinte. Dans le cas où le flacon serait plein en cours de manipulation, le changement du flacon est à la charge du manipulateur.
- Plusieurs produits désinfectants et antiseptiques (virucides, bactéricides et fongicides à large spectre) sont mis à disposition dans les laboratoires de production :
 - **lotion nettoyante antiseptique et hypoallergénique** : distributeur pour lavage des mains dans le SAS 2 – Propriétés bactericide (EN1040), Listeria, Salmonella, Staphilococcus aureus (NFT72-171, EN1276, EN1499) Fongicide (EN1275), Candida (NFT72-301), et virucide sur adenovirus, rotavirus, poliovirus, HIV, H1N1 (EN14476), Temps d'action : 30s, MANIBACT des Laboratoires A.C.I).

Charte de Fonctionnement du Pôle Technologique du CRCT

	Plateau de Vectorologie	
	Règlement Intérieur Version Janvier 2016	

- **Lingette décontaminante Super Sani-ClothPlus (PDI)** (isopropanol 70% + n-Alkyl dimethyl ethylbenzyl ammonium chloride 0,25% + n-Alkyl dimethyl benzyl ammonium chloride 0,25%) – temps de contact 1 mn. Efficace contre les virus enveloppés HIV-1, virus de la vaccine, rhinovirus, grippe de hong-kong selon les normes BGA (DW/RKI) et les virus non enveloppé tel qu'adénovirus (EN14476)
- **Lingette décontaminante Super-Cloth Chlor (PDI)** (Hypochlorite de sodium – concentration en chlore actif > 1,2° chlorométrique) - temps de contact 1 mn. Bactéricide, Fongicide et Virucide (Adenovirus type 2, HIV-1, Hepatite (A, B et C), HSV, influenza...)
- **Décontaminant Désogerme virex** en spray : (Laboratoire A.C.I) virucide sur HIV-1, H1N1, polio, virus de la vaccine en 1mn de contact et ayant la norme AFNOR et Européennes (NFT 72-300, 72-301, 72-281, 72-180, 72-181 et EN 1650, 1040, 1276) (N° d'inventaire au Ministère de l'environnement : 23335). Deux spray sont disponibles par box : un sur la pailasse, l'autre dédié sous le PSM.
- **Décontaminant concentré Désogerme microchoc +** pour les colonnes à pipettes et les bonbonnes :
 - Utilisation à 0,5 % final, répond aux Normes bactéricide, fongicide, sporicide et virucide NFT 72301, NFT 72181, NFT 72231, EN 1276, EN 1650 (de 0,25 à 2%), Actif en présence d'eau dure et de matières organiques. Temps de contact 15 minutes. Testé efficace sur le virus de la grippe aviaire.
- produit antiseptique algicide pour l'eau du bain-marie

1. Nettoyage:

- En fin de semaine, le dernier utilisateur :
 - Vide l'eau du bain-marie dans l'évier, sèche la cuve et la nettoie à l'aide d'une lingette détergente/décontaminante Super Sani-ClothPlus.
 - Nettoie la surface des paillasses, incubateurs, bain-marie et centrifugeuse à l'aide de lingettes détergente/désinfectante
- Lorsque la bonbonne sous évier est à moitié pleine, la démonter et la remplacer par une nouvelle bonbonne vide disponible dans le couloir de la zone confinée. Entreposer la bonbonne pleine près de l'autoclave dans le hall de desserte.
N.B. : La bonbonne sous évier est destinée à ne recevoir que les effluents liquides du bain-marie et de l'incubateur et, en aucun cas, les liquides biologiques qui doivent être aspirés directement sous le PSM.

2. Evacuation des déchets du L3 :

- Le laboratoire est équipé d'un autoclave double entrée de HS 5510 EMC-2 type P3 de fabrication Getinge. Cet autoclave est muni d'un système de traitement des effluents, d'une sonde produit, et d'un système de sauvegarde de l'historique des cycles. Il est programmé pour effectuer des cycles d'inactivation des solides, des liquides et des matériaux poreux.
- Deux personnels permanents de la plateforme sont habilités à la conduite d'appareils sous pression ainsi que le personnel laverie du bâtiment. Ces trois personnels ont été formés spécifiquement à la conduite de cet autoclave double-entrée par la société Getinge.
- Les sacs de déchets solides et les poubelles jaunes type Sharpsafe® sont autoclavés chaque semaine. Un témoin d'autoclavage (type stérilpoint) est introduit dans l'un des sacs poubelle lors de chaque cycle.

Charte de Fonctionnement du Pôle Technologique du CRCT

	Plateau de Vectorologie	
	Règlement Intérieur Version Janvier 2016	

- Les déchets liquides sont autoclavés directement dans les bouteilles sécurisées du système d'aspiration des liquides biologiques. La sonde « produit » est introduite dans l'un des flacons pour s'assurer de la montée en température du liquide et de son inactivation à cœur.
- L'ensemble des déchets solides et liquides sont ensuite évacués en DASRI par une filière spécialisée : SITA SUD-OUEST – MEDISITA, 31790 Saint-Eulalie, n° Siren : 701 980 203 00635

I. Entretien de la zone confinée et des CTA :

- L'entretien périodique de la zone confinée est programmé par le personnel permanent de la plateforme de vectorologie :
- **En fin de semaine**, le dernier utilisateur nettoie la surface des paillasses, incubateurs, bain-marie et centrifugeuse à l'aide de lingettes détergente/désinfectante
- **Une fois par mois**, un personnel de la plateforme assure la désinfection de surface et le nettoyage des PSM, des paillasses et des sols
- **Tout les deux mois** en moyenne, la société de maintenance du système de traitement d'air change les préfiltres de la CTA desoufflage.
- **Une fois par an**, l'entretien annuel est programmé par le personnel de la plateforme. Il nécessite l'arrêt de toutes activités dans la zone confinée. Plusieurs interventions ont lieu :
 - la décontamination de l'ensemble des pièces de la zone confinée réalisée par le personnel de la plateforme selon la procédure mise en place
 - le nettoyage de l'intégralité de la zone confinée (sol, mur, plafond et matériel), réalisé par le personnel de la plateforme et aidé, éventuellement, par des utilisateurs volontaires.
 - La vérification et le contrôle de l'ensemble du système de traitement d'air, réalisés par la société en charge de la maintenance avec le changement des préfiltres et des filtres absolus.
 - La maintenance, la vérification et le contrôle de tout le matériel équipant chacun des laboratoires de production (PSM, centrifugeuses, incubateurs, microscopes,...)
 - Le contrôle des éléments de sécurité comme les extincteurs et des détecteurs de fumée.
- ❖ **Remarque :**
 - L'intervention des sociétés extérieures est soumise au préalable à la signature par les deux parties d'un plan de prévention. Ce plan de prévention informe de la nature des agents biologiques pathogènes manipulés, des conditions d'accès à la zone confinée et de la conduite à tenir en cas d'accident. Les intervenants seront accompagnés par un personnel permanent du plateau en début d'intervention.

Charte de Fonctionnement du Pôle Technologique du CRCT

ANNEXE 7: Règlement intérieur – Laboratoires L2

	Utilisation du laboratoire L2 Culture Cellulaire du Pôle Technologique	
	Règlement intérieur Version Avril 2018	

Ce règlement établit la bonne utilisation du L2 A1.27a et de son matériel, tout en assurant les règles d'hygiène et sécurité.

Le laboratoire L2 A1.27a est équipé du matériel de culture cellulaire classique:

- incubateur Panasonic classique (CO₂)
- incubateur Panasonic mixte (CO₂/azote)
- centrifugeuse réfrigérée HERAEUS
- deux PSM (PSM1 et PSM2)
- microscope inversé Nikon
- deux jeux de pipettes, un bain-marie, un vortex, un réfrigérateur et un pipet-aid sont également à la disposition des utilisateurs.

Sont aussi à disposition :

- une enceinte Hypoxie BAKER RUSKINN Sci-tive
- un SeaHorse XFe 24 Analyser
- un Elutriateur

1. ACCES AU L2 A1.27a

Le L2 est ouvert de 8h à 18h.

Afin de garantir une occupation organisée des lieux, la réservation des appareils doit être réalisée *via* le site <http://crct-grr/login.php>

L'utilisateur doit choisir la ressource, préciser l'heure de début de réservation ainsi que sa durée.

Pour les personnes extérieures au CRCT, la demande de réservation doit se faire par mail auprès des responsables du L2 (christele.segura@inserm.fr et manon.farce@inserm.fr).

A chaque fin de séance, l'utilisateur devra remplir la fiche de Suivi Utilisateur disponible dans le sas du L2 en indiquant son nom, prénom, laboratoire et la durée d'utilisation du système.

Le L2 est autogéré par les utilisateurs. Le personnel du Pôle technologique n'est en aucun cas responsable des problèmes dus à la mauvaise discipline des utilisateurs. **Il se réserve néanmoins le droit d'en interdire l'accès à toute personne qui n'aura pas respecté le présent règlement.**

L'utilisation du L2 est gratuite pour les équipes du CRCT. Pour les personnes extérieures, une participation financière est demandée afin de couvrir le coût des contrôles réglementaires, des maintenances et de l'achat des EPI.

Charte de Fonctionnement du Pôle Technologique du CRCT

2. REGLES D'UTILISATION :

Avant toute première utilisation, **chaque utilisateur doit impérativement se rapprocher des responsables L2 du Pôle technologique** pour prendre connaissance des procédures de travail adaptées et compléter une fiche utilisateur.

L'utilisateur s'engage à respecter les mêmes consignes d'hygiène et sécurité relatives à l'utilisation des L2 que celles énoncées par la coordinatrice hygiène et sécurité du CRCT. Ces consignes concernent :

- le port de la blouse, des gants et des sur-chausses
- le traitement et l'évacuation des déchets biologiques
- le nettoyage et la décontamination des PSM et des pipettes après chaque utilisation
- le nettoyage des incubateurs et leur approvisionnement en eau
- le nettoyage de la centrifugeuse, la décontamination des nacelles, couvercles et adaptateurs
- le changement régulier de l'eau des bains-marie avec ajout systématique d'une solution, antibactérienne et fongicide

Il est également demandé aux utilisateurs de prendre soin du petit matériel.

Le pôle Technologique met à disposition les EPI (blouses jaunes, gants et sur-chausses), les solutions et matériel de décontamination mais n'est pas responsable de l'approvisionnement en consommable de culture cellulaire. Chaque équipe utilisatrice devra donc participer à l'approvisionnement en consommable.

Avant toute première utilisation, chaque équipe devra déposer un « kit L2 », à savoir :

- une boîte de pointes à filtre de 1000µl, 200 µl, 100µl, 10µl
- des pipettes d'aspiration, et des pipettes de 25, 10 ou 5ml, selon les besoins
- des boîtes et plaque de culture nécessaires à l'utilisateur

3. ENGAGEMENT DE VIGILANCE

L'utilisateur s'engage à signaler immédiatement aux personnels du Pôle Technologique tout dysfonctionnement qu'il aurait pu constater ou provoquer dans le L2.

4. EXTINCTION DES APPAREILS

A la fin de chaque utilisation, les appareils seront nettoyés, et éteints si aucun utilisateur ne les a réservés.

Charte de Fonctionnement du Pôle Technologique du CRCT

	Utilisation du laboratoire L2 Vectorologie du Pôle Technologique	
	Règlement intérieur Version Avril 2018	

Ce règlement établit la bonne utilisation du L2 Vectorologie et de son matériel, tout en assurant les règles d'hygiène et sécurité.

Le laboratoire L2 A1.27b est équipé de:

- un incubateur Panasonic classique (CO₂)
- un incubateur Panasonic mixte (CO₂/azote)
- un PSM
- une centrifugeuse réfrigérée Eppendorf
- un imageur Zoé
- un compteur de cellules Luna

Un jeu de pipettes, un bain-marie, un vortex, un réfrigérateur et un pipet-aid, sont également à la disposition des utilisateurs.

Cette pièce est exclusivement dédiée à l'utilisation des vecteurs viraux de classe de confinement 2. (Les productions se font en Laboratoire L3)

1. ACCES AU L2 A1.27b

Le L2 est ouvert de 8h à 18h.

Afin de garantir une occupation organisée des lieux, la réservation du PSM doit être réalisée *via* le site <http://crct-grr/login.php> L'utilisateur doit choisir la ressource, préciser l'heure de début de réservation ainsi que sa durée.

A chaque fin de séance, l'utilisateur devra remplir la fiche de Suivi Utilisateur disponible dans le sas du L2 en indiquant son nom, prénom, laboratoire et la durée d'utilisation du système.

Le L2 est autogéré par les utilisateurs.

Le personnel du Pôle technologique n'est en aucun cas responsable des problèmes dus à la mauvaise discipline des utilisateurs. **Il se réserve néanmoins le droit d'en interdire l'accès à toute personne qui n'aura pas respecté le présent règlement.**

L'utilisation du L2 est gratuite pour les équipes du CRCT.

2. REGLES D'UTILISATION :

Formation :

Les nouveaux utilisateurs devront impérativement être formés par le personnel du plateau de vectorologie avant toute première utilisation et compléter une fiche utilisateur.

Les procédures de travail spécifiques vous sont communiquées à cette occasion.

L'utilisateur s'engage à respecter les mêmes consignes d'hygiène et sécurité relatives à l'utilisation des L2 que celles énoncées par la coordinatrice hygiène et sécurité du CRCT. Ces consignes concernent :

- le port de la blouse, des gants et des sur-chaussures
- le traitement et l'évacuation des déchets biologiques

Charte de Fonctionnement du Pôle Technologique du CRCT

- le nettoyage et la décontamination des PSM et des pipettes après chaque utilisation
- le nettoyage des incubateurs et leur approvisionnement en eau
- le nettoyage de la centrifugeuse, la décontamination des nacelles, couvercles et adaptateurs
- le changement régulier de l'eau des bains-marie avec ajout systématique d'une solution, antibactérienne et fongicide

Cependant, des précautions complémentaires liées à l'utilisation de vecteurs viraux doivent être suivies par les manipulateurs :

- port d'une deuxième paire de gants obligatoire
- utilisation exclusive de pointes filtrées
- utilisation de flacons de culture à bouchons filtrés exclusivement

Une description plus exhaustive de ces procédures est présente dans le L2.

Il est également demandé aux utilisateurs de prendre soin du petit matériel.

Le pôle Technologique met à disposition les EPI (blouses jaunes, gants nitriles et sur-chaussures) et les solutions et matériel de décontamination mais n'est pas responsable de l'approvisionnement en consommable de culture cellulaire. Chaque équipe utilisatrice devra donc participer à l'approvisionnement en consommable.

Avant toute première utilisation, chaque équipe devra déposer un « kit L2 », à savoir:

- Une boîte de pointes à filtre de 1000µl, 200 µl, 100µl, 10µl
- Des pipettes d'aspiration, et des pipettes de 25, 10 ou 5ml, selon les besoins
- Des boîtes et plaques de culture nécessaires à l'utilisateur

3. ENGAGEMENT DE VIGILANCE

L'utilisateur s'engage à signaler immédiatement aux personnels du Pôle Technologique tout dysfonctionnement qu'il aurait pu constater ou provoquer dans les L2.

En cas de contamination sous ou hors PSM, les utilisateurs s'engagent à appliquer les procédures de décontamination mises en place et disponibles dans le L2 et à avertir immédiatement les responsables du L2.

4. EXTINCTION DES APPAREILS

A la fin de chaque utilisation, le PSM sera nettoyé, et éteint si aucun utilisateur ne l'a réservé.

Charte de Fonctionnement du Pôle Technologique du CRCT

ANNEXE 8: Règlement intérieur – Irradiateur

	Utilisation du local d'irradiation biologique de l'INSERM	
	Règlement intérieur Version Janvier 2019	

Chaque utilisateur devra se conformer au contenu du présent règlement.

1. Modalités générales d'utilisation

Cet appareil est strictement réservé à l'irradiation de cellules ou de petits animaux à des fins de recherche. Il est placé sous la responsabilité technique de **Caroline DELMAS** : elle seule est habilitée à juger de la faisabilité et des modalités de mise en œuvre d'un protocole : elle peut proposer de faire elle-même l'irradiation ou de former l'utilisateur afin qu'il puisse être autonome.

Les utilisateurs occasionnels et les utilisateurs extérieurs à l'Inserm ne pourront pas accéder seuls à l'irradiateur.

2. Autorisation d'accès

L'accès au local irradiateur se fait par le sas d'entrée dans la zone réglementée du service ENI de l'UMS006, CREFRE, au rez-de-chaussée du bâtiment D3. Un contrôle d'accès par badge limite l'accès à cette zone aux seules personnes autorisées. L'entrée dans le local irradiateur se fait également par badge. Seuls les badges des personnes autorisées permettent l'accès à ce local.

Pour obtenir une autorisation d'accès, les utilisateurs devront au préalable avoir passé une visite médicale et obtenu une attestation de non contre-indication à l'exposition aux rayonnements ionisants délivrée par le médecin de prévention de leur structure. Les utilisateurs devront avoir reçu une formation générale de radioprotection par la PCR de leur structure. Une formation à la manipulation de l'irradiateur sera réalisée par la responsable technique de l'appareil si le protocole le permet. Ils seront aussi informés des modalités d'accès à la zone réglementée du service ENI US006/CREFRE et de la logistique d'utilisation de la pièce par la responsable du service ENI. La PCR des utilisateurs transmet à la responsable du service ENI/CREFRE les demandes d'autorisation d'accès à l'irradiateur pour tout nouvel utilisateur. Le paramétrage des badges est fait par les personnes de l'INSERM formées ayant accès au système sur demande de la PCR des utilisateurs ou de la responsable du service ENI.

3. Planification de l'utilisation du local.

Les personnes désirant manipuler en autonomie devront avoir réservé une plage horaire correspondant au temps d'irradiation + 15min. La réservation se fait sur l'intranet du CRCT, elle est modérée par Caroline DELMAS, responsable technique de l'irradiateur.

4. Entrée et sortie des personnes

L'irradiateur devra être utilisé durant les heures d'ouverture du CRCT soit de 7h30 à 19h30 les jours ouvrables. Avant d'accéder à la zone de l'irradiateur, l'utilisateur devra :

- Entreposer pour décontamination (spray) et entrée en zone les produits ou cages d'animaux dans le passe- animal prévu à cet effet. Les éléments à irradier ne doivent pas passer par le sas du personnel.

Charte de Fonctionnement du Pôle Technologique du CRCT

- Se munir d'un dosimètre opérationnel et se connecter au système d'enregistrement (code personnel)
- S'équiper d'une tenue spécifique : surchausses, gants, charlotte, masque, combinaison jetables dans le sas du personnel.
- Récupérer le matériel entreposé dans le passe-animal en ouvrant la porte de l'intérieur.

Après irradiation:

- Entreposer le matériel dans le passe-animal
- Vérifier une éventuelle contamination des mains et des pieds en utilisant l'appareil placé dans le sas du personnel.
- Enlever les EPI (surchausses, gants, charlotte, masque, combinaison jetables).
- Reposer le dosimètre opérationnel et se déconnecter au système d'enregistrement
- Récupérer le matériel entreposé.

5. Utilisation du local irradiateur

Le port d'un dosimètre passif de poitrine et d'un dosimètre opérationnel sont obligatoires pour les utilisateurs réguliers. Les utilisateurs occasionnels pourront être autorisés à accéder au local avec seulement un dosimètre opérationnel en fonction de l'analyse de risque. Le suivi des résultats de la dosimétrie opérationnelle est assuré par les services de radioprotection du CRCT et/ou du CREFRE.

Dans le local irradiateur, une table est mise à disposition. L'utilisation de l'irradiateur doit être tracée dans le registre prévu à cet effet : genre de manipulation, numéro du protocole, nom du manipulateur, temps d'irradiation et signature.

L'utilisateur est tenu de laisser le local propre après son passage.

6. Conduite à tenir en cas d'incident ou d'accident

Les consignes en cas d'urgence sont détaillées et affichées à l'entrée du local irradiateur. Elles concernent tout déclenchement d'alarme ou anomalie au niveau des sécurités de l'irradiateur : il est impératif dans ce cas de s'éloigner immédiatement de l'irradiateur. La PCR de la zone (PCR du CREFRE) doit aussitôt être avertie afin de mettre en œuvre les mesures correspondant à ce type d'évènement (plan d'urgence, confinement,...).

Tout évènement (incident ou accident) survenant dans la zone radio contrôlée du CREFRE et pouvant conduire à une exposition inhabituelle des utilisateurs de la zone doit être inscrit dans le registre prévu à cet effet par une PCR et les autres PCR doivent en être informées dans les 24h.

Caroline Delmas
Delmas.Caroline@iuct-oncopole.fr

Charte de Fonctionnement du Pôle Technologique du CRCT

Annexe : affichages consignes et contacts utiles en cas d'urgence

PERSONNES A PREVENIR EN CAS DE PERTE, VOL OU ACCIDENT DE SOURCES RADIOACTIVES OU DE PRODUITS / APPAREILS EN CONTENANT

DIRECTEUR ET AUTORISATAIRE DE L'U1037

Gilles FAVRE TEL 05 82 74 17 50

PERSONNES COMPETENTES EN RADIOPROTECTION – U1037

Magali DIETTE TEL 05 82 74 15 94 ou 05 31 22 41 57

Stéphane CARPENTIER TEL 05 82 74 16 17

PERSONNES COMPETENTES EN RADIOPROTECTION ENI-CREFRE

Carine PESTOURIE TEL 05 82 74 16 80 / 06 77 80 49 55

PREFET DE LA HAUTE GARONNE

Place Saint Etienne

TEL.: 05 34 45 34 45

Direction de la Sécurité Civile et des Risques Majeurs :

05 62 27 66 41

I.R.S.N. – CENTRE DE FONTENAY AUX ROSES

URGENCE 24H sur 24H

TEL. : 06 07 31 56 63

A.S.N. - AUTORITE DE SURETE NUCLEAIRE

Cité administrative de Bordeaux – Boite 21

2 rue Jules Ferry 33 090 Bordeaux Cedex

TEL. : 05 56 24 87 58

FAX : 05 56 24 87 11

SITUATION D'URGENCE : 24h/24h

A.S.N. N° vert d'urgence : 0 800 804 135

Consignes en cas d'incident ou d'accident

⇒ **signaler tout incident, dysfonctionnement à la PCR et l'inscrire dans le registre hygiène et sécurité**

EN CAS DE DECLenchement DE L'ALARME DU DOSIMETRE OPERATIONNEL

Sortir immédiatement de la pièce et fermer la porte.

Prévenir les personnes travaillant dans les locaux, la responsable/PCR du service ENI et la PCR du CRCT.

EN CAS DE DYSFONCTIONNEMENT AU NIVEAU DE L'IRRADIATEUR

Prévenir la responsable technique de l'appareil

Si le dysfonctionnement est relatif à un système de sécurité de la cabine d'irradiation prévenir également la responsable/PCR du service ENI ainsi que la PCR du CRCT.

EN CAS DE DÉBUT D'INCENDIE

Déclencher manuellement l'alarme

Appeler les secours (018)

Attaquer le feu avec un extincteur (si formé et si début de feu)

Evacuer