

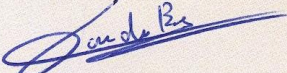
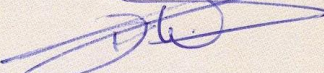
	Plateau de Vectorologie	
	Règlement Intérieur Version Janvier 2016	

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 : 
---	--	--

	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 :

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

	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 :**

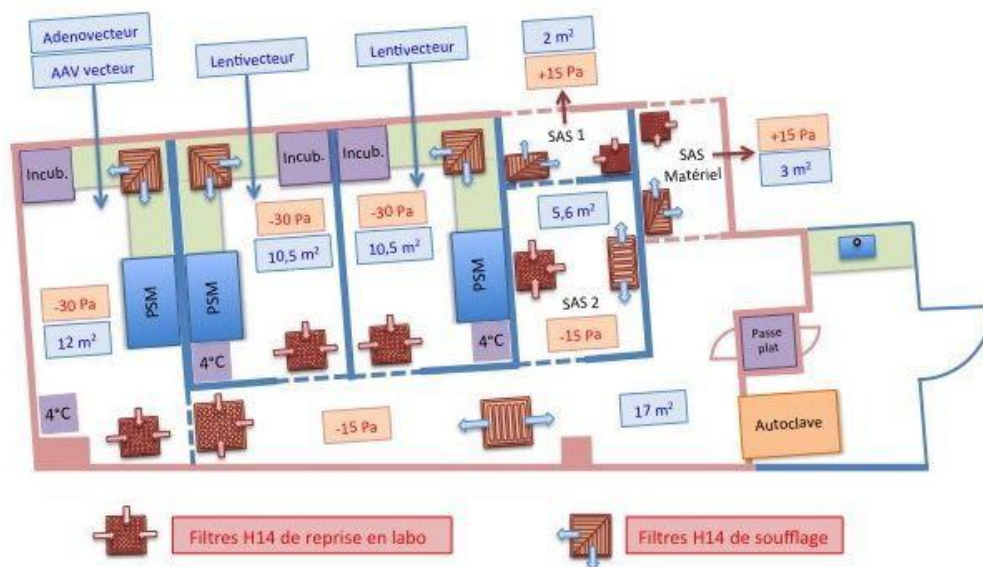
1. Principe du confinement :

- 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.

Pôle  TECHNOLOGIQUE 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.



	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

Pôle TECHNOLOGIQUE 	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 fermé 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.

	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)

	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.

	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 envisagée 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.

	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 « desogerme 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.

	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

	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 évitez 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.

	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.

	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.

	Plateau de Vectorologie	
	Règlement Intérieur Version Janvier 2016	

- ❖ A l'issus 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 maitrisable 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 maitrisable, 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.

	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)

	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 désoggerme 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, Staphylococcus 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).

	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 enveloppés 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, Hépatite (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 paillasse, 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 stéripoint) est introduit dans l'un des sacs poubelle lors de chaque cycle.

	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 paillasse, 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 paillasse et des sols
- **Tous 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 lieux :
 - 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.