

LABORATOIRE DE BIOTECHNOLOGIE ET
AMELIORATION DES PLANTES

HYGIENE & SECURITE BONNES PRATIQUES DE LABORATOIRE

CERTIFICAT DE PRESENCE A LA FORMATION

Directeur Labo :
Michel Petitprez

Formateurs :
Philippe Anson
Patrick Bermudes
Fabienne Vailleau
Thierry Liboz

Section : F

Version : 5

I Hygiène et sécurité

LA PREVENTION DES RISQUES PROFESSIONNELS

REGLES RELATIVES A L'HYGIENE ET A LA SECURITE

Livre II, Titre III du Code du Travail

DECRETS MINISTERIELS

Décret 82-453 du 28 mai 1982 modifié par le décret 95-680 du 9 mai 1995

Décret 95-482 du 24 avril 1995

ACTEURS DE LA PREVENTION DANS L'ETABLISSEMENT

AGENTS ET USAGERS

LA SECURITE EST L'AFFAIRE DE CHACUN

RESPONSABLES D'ETABLISSEMENT ET DE SERVICE

Chef d'établissement ENSAT : Francis Sevila 0562193977

Chef de service (directeur labo) : Michel Petitprez 0562193593

FONCTIONNELS DE LA PREVENTION

Agent chargé de la mise en œuvre (ACMO) bât A : Georges Merlina 0562193941

Agent chargé de la mise en œuvre (ACMO) bât B : Philippe Anson 0562193588

Médecin de prévention INP : Dr Fernandez Jean 0562240755

Infirmière médecine préventive INP : Mde Rouilhès Chantal 0562240754

MISE EN PLACE DE LA PREVENTION

LE COMITE D'HYGIENE ET DE SECURITE (CHS)

Le CHS est une instance de concertation ayant pour objet de promouvoir l'amélioration des conditions d'hygiène et de sécurité au sein de l'établissement. Il est chargé de faire toutes propositions utiles au conseil d'administration de l'établissement. Il est présidé par le chef d'établissement et comprend des représentants de l'administration, des personnels, des étudiants et des personnels des services médicaux. Il existe un CHS au niveau de l'INP et un CHS au niveau de l'ENSAT.

Représentants du BAP aux CHS ENSAT/INP : Philippe Anson, Thierry Liboz

DROITS DES AGENTS ET DES USAGERS

Un registre « Hygiène et sécurité » est mis à la disposition des personnels et des usagers du laboratoire à l'accueil (porte 001). Par ailleurs tout agent peut exercer en cas de danger un droit de retrait. Enfin les agents doivent obligatoirement bénéficier d'une formation.

INCENDIE



Matières
inflammables

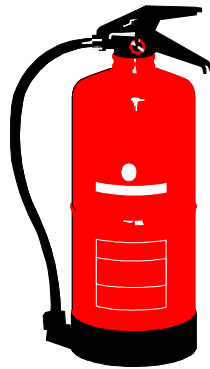
I Précautions à prendre

Eviter les erreurs :

Ne pas travailler à proximité d'une flamme avec des produits inflammables.

Eviter les surcharges électriques.

II En cas d'incendie



Extincteur à eau + additif → A (feu de papier)

B (carburant)

Extincteur à poudre → A (feu de papier)

B (carburant)

C (électrique < 1000V)

ELECTRICITE



Risque
électrique

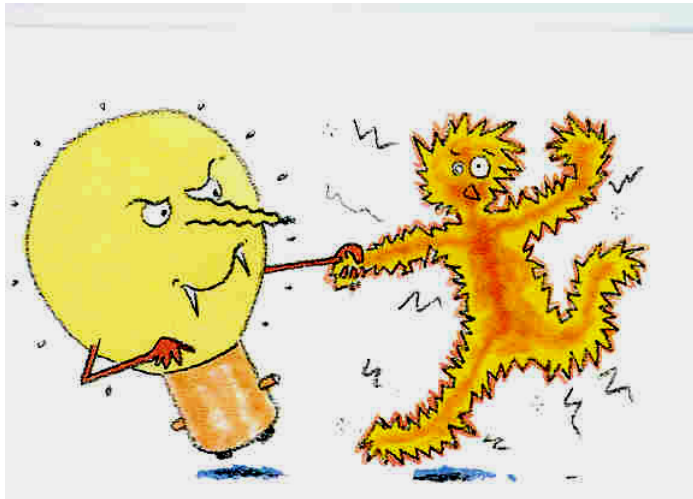
I Précautions à prendre

Mise en service : exemples

- Ne pas manipuler les mains mouillées.
- Signaler le mauvais état des prises ,les appareils en panne.

II Effets dose

- Effets physiologiques : 1mA = perception cutanée
- 5 mA = secousse électrique
- 10mA = contracture musculaire → incapacité de lâcher prise. (Générateur protéines)
- 25 mA 3' = téτανisation des muscles
- 40 mA 5' ou 80mA 1' = fibrillation ventriculaire.(AFLP)
- 2000 mA = inhibition des centres nerveux

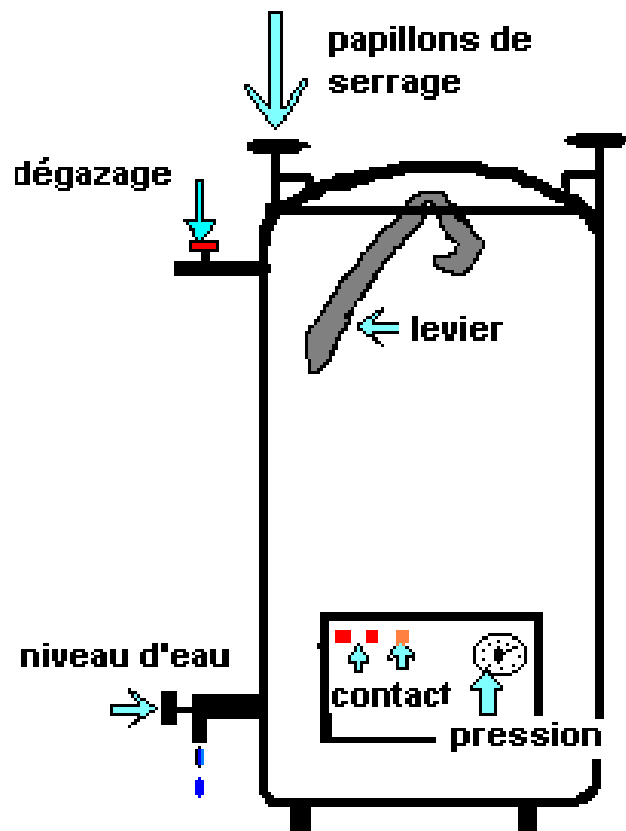


Appareils sous pression

L'Autoclave

Précautions d'utilisation

- Agrément **obligatoire**.
- Impérativement lire les consignes de sécurité et d'utilisation



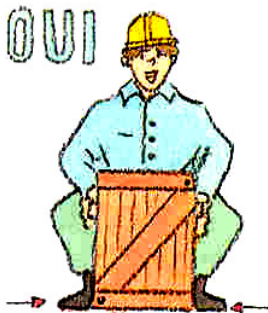
MANUTENTION & POSTURES DE TRAVAIL

I Charges limites : (Norme AFNOR)

Homme seul : 25kg

Femme seule : 15kg

II Postures de travail



5 – AMBIANCES



Danger dû
au bruit

I Bruit

Exemple : Port du casque obligatoire pour la manipulation et l' environnement du sonicateur.

II Eclairage

Locaux de travail : 120lux

Travail de bureau : 200 lux

Taches difficiles dans un laboratoire : 800 lux

RISQUES CHIMIQUES



Evaluation des risques

1) L'étiquette et la fiche de données de sécurité

A lire impérativement avant tout usage de produits.

2) Les risques liés aux propriétés physico-chimiques

- le point éclair : T° a laquelle il faut porter un liquide pour que les vapeurs émises s'enflamment en présence d'une flamme dans des conditions normalisées.
- le point d'auto inflammation : T° a laquelle les vapeurs s'enflamment spontanément sans apport de flamme.
- les limites d'explosibilité : les gaz et les vapeurs peuvent exploser si le rapport vapeur / air est compris entre 2 valeurs limites (LIE et LSE, s'exprime en % dans l'air).



3) Les effets liés aux propriétés toxiques

- les voies de pénétration essentiellement cutanées et orales
- la classification des effets : aigus 15', subaigus 2 semaines, long terme
- l'intoxication et la détoxification
- les valeurs limites d'exposition

RISQUES BIOLOGIQUES



Risques
biologiques

CLASSIFICATION DES RISQUES & CONFINEMENT

L1 : FAIBLE RISQUE

Pas de maladie chez l'individu sain et peu susceptible d'être transmis (ex *E. Coli*). Les locaux où sont manipulés ces microorganismes doivent être isolés par une porte et doivent être facilement lavables ([salle de microbiologie porte T17](#)). Le laboratoire doit être équipé d'un autoclave.

L2 : RISQUE MODERE

Maladie transmissible pouvant être sévère, mais pour laquelle il existe des mesures préventives et une thérapie efficace (ex *Listeria*, *Staphylococcus aureus*). Les locaux doivent être en accès réglementé pour personnel autorisé, avec fermeture hermétique et lavabos à commande non manuelle. Ils doivent également comporter des postes de sécurité microbiologiques (PSM). [Le matériel contaminé et les déchets doivent être inactivés.](#)

L3 : RISQUE FORT

Maladie engendrée grave voir mortelle mais dont la transmission est limitée (ex SIDA, fièvre jaune, hépatite B). Les dispositions sont les mêmes qu'en L2 avec en plus un système de filtration de l'air et un système d'alarme. Les PSM doivent être de type II. Les locaux concernés doivent être en pression négative. Les manipulateurs doivent porter surbottes et surblouses en plus des vêtements de protection habituels.

L4 : RISQUE MAJEUR

Maladie mortelle sur le plan individuel et collectif. Aucun traitement connu (ex Ebola). Les dispositions sont les mêmes qu'en L3 avec en plus un système de ventilation secourue, un interphone, un double sas, une douche obligatoire. Les PSM doivent être de type III et les manipulateurs doivent porter un scaphandre.

LES MICRO-ORGANISMES DE QUARANTAINE

(pour les végétaux)

La manipulation des micro-organismes de quarantaine est sous le couvert de la réglementation régie par la Commission de Génie Génétique, c'est elle qui établit la liste des différents pathogènes au niveau national. Une demande d'agrément doit être faite pour pouvoir les manipuler, après un audit de l'organisme demandeur, c'est le préfet qui signe l'agrément, la durée pour l'obtention est d'environ 90 jours et il est valable 5 ans.

Il y a trois classes de risque pathogène :

Ep 1 : Micro-organismes pathogènes pour la plante, mais ne représentant pas de risque d'épidémie dans l'environnement (ex *E. Coli*)

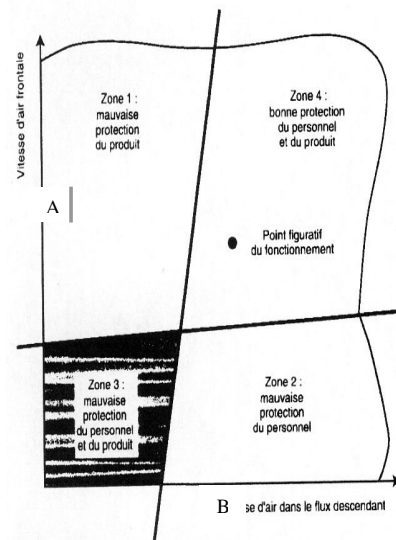
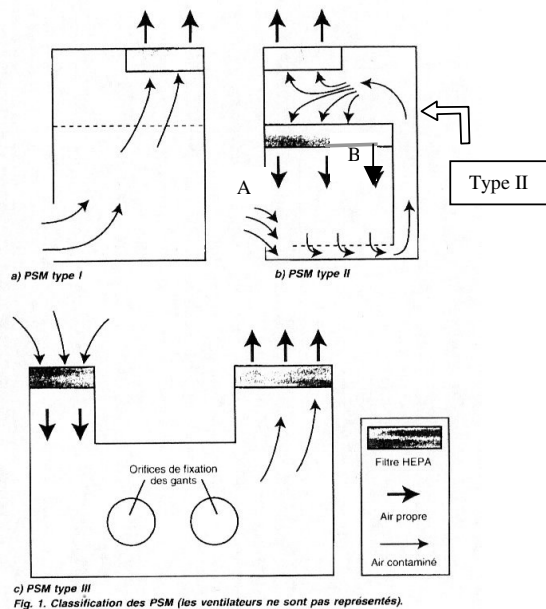
Ep 2 : Micro-organismes connus pour causer des épidémies dans les cultures de la région ou est conduite l'expérimentation ou d'infecter certaines plantes appartenant à la flore spontanée de la région.

⇒ **Risque local d'épidémie sérieux, installation assurant un confinement efficace du pathogène.**

Ep3 : Micro-organisme à fort pouvoir pathogène pour les plantes avec épidémie. Ils sont soumis normalement à une quarantaine.

⇒ **Conditions de confinement particulièrement strictes**

Les expériences se font obligatoirement sous une PSM type II.



Contamination du personnel et/ou du produit.

La figure 8 montre les différentes interactions du flux entrant et flux descendant filtré :

Zone 1 : Flux entrant + fort que le flux descendant : produit contaminé.

Zone 2 : Flux entrant + faible que le flux descendant : personnel contaminé.

Zone 3 : Flux entrant et flux descendant faibles : personnel et produit contaminé.

LES MICRO-ORGANISMES DE QUARANTAINE

(pour les végétaux) suite :

Zone 4 : Flux entrant ajuster au flux descendant : personnel et produit non contaminé. Consignes Zone P2 du laboratoire BAP

Les bactéries phytopathogènes manipulées au laboratoire BAP (Biotechnologie et Amélioration des Plantes) ne sont pathogènes ni pour l'homme ni pour les animaux. Elles peuvent par contre provoquer des maladies sur les plantes cultivées (Tomate, Pomme de terre, ...) et il est important et nécessaire d'éviter toute dissémination vers l'extérieur.

Seules les personnes du laboratoire BAP ayant des expérimentations nécessitant un accès à la zone de quarantaine du laboratoire (Zone P2), qui auront été informés des BPL spécifiques relatives à cette partie du laboratoire, et qui auront lu et signé le formulaire « habilitation au travail dans les salles de quarantaine », pourront accéder à la zone P2 du laboratoire. Toute autre entrée ponctuelle dans la zone P2 devra se faire avec un accompagnateur autorisé à pénétrer dans la zone, et devra être archivée sur le cahier à l'entrée du P2.

Pour toute question à ce sujet, voir Fabienne Vaillau, responsable des activités de quarantaine (microorganismes).



VOIES DE CONTAMINATION

VOIE PULMONAIRE (aérosols et poussières)

VOIE CUTANEE (projections, blessures ...)

VOIE ORALE (ronger ses ongles ...)

LES O.G.M.

Un OGM est un organisme dont le patrimoine génétique a été artificiellement modifié. Les niveaux de risques définis et les niveaux de confinement correspondants sont analogues à ceux décrits pour les organismes naturels. L'utilisation d'OGMs requiert l'agrément de commissions spécialisées. Les OGMs doivent être manipulés dans des locaux conformes à la réglementation et par des expérimentateurs confirmés utilisant les bonnes pratiques de labo.

GROUPE I (classe 1): organismes non pathogènes

Organismes ne présentant aucun danger pour l'individu et l'environnement.

Ce sont les seuls types de microorganismes manipulés au laboratoire.

GROUPE II (classes 2,3,4): organismes pathogènes

MESURES DE PREVENTION

L'essentiel de la prévention consiste à éviter la pénétration des agents biologiques dans l'organisme humain et leur dispersion sur le lieu de travail et dans l'environnement, en respectant des gestes et les règles de confinement adaptés et en inactivant les déchets. Il faut aussi tenir compte des risques associés (chimiques, appareillages ...)

RISQUES LIES AUX RAYONNEMENTS IONISANTS



LES RISQUES

SOURCES NON SCELLEES

Ce sont des sources radioactives dont la présentation et les conditions normales d'emploi ne permettent pas de prévenir toute dispersion de substances radioactives. Selon le radioélément, les utilisateurs sont exposés à 2 risques : le risque d'irradiation et/ou celui de contamination.

Ce sont les seules sources manipulées au laboratoire.

SOURCES SCELLEES

Elles sont constituées par des substances radioactives incorporées dans des matières inertes ou scellées dans une enveloppe inactive, présentant une résistance suffisante pour éviter toute dispersion de substances radioactives. Le seul risque encouru est l'irradiation.

MESURES DE PREVENTION

AUTORISATION DE DETENTION

La détention et l'utilisation de sources radioactives nécessitent une autorisation spécifique de la commission interministérielle des radioéléments artificiels (CIREA).

PERSONNE COMPETENTE EN RADIOACTIVITE (PCR)

C'est une personne qui a reçu une formation agréée et validée, et qui connaît les risques liés à la manipulation des sources radioactives. Elle met en place les mesures nécessaires pour prévenir les risques. *PCR du BAP : Thierry Liboz (043)*

DOSIMETRIE

Le port d'un dosimètre est obligatoire dans le cas de manipulation de radioéléments en sources non scellées émetteurs de rayonnement β de forte énergie (phosphore 32 & 33) et dans le cas de sources scellées. La distribution des films dosimétriques est assurée par la PCR.

CONFINEMENT DES LOCAUX

Suivant le type de source radioactive, la quantité de radioactivité manipulée et la fréquence des manipulations, les locaux doivent être balisés en zone surveillée (020) ou contrôlée (T15), et équipés en conséquence. Des mesures complémentaires de prévention doivent être prises en cas de risques de contamination (sources non scellées).

RISQUES LIÉS AUX RAYONNEMENTS NON IONISANTS



Radiations
non ionisantes

INFRAROUGE

ULTRAVIOLET

Les conséquences de l'exposition du corps humain à la lumière sont liées à la quantité d'énergie reçue. Des rayonnements infrarouge (IR) ou ultraviolet (UV) peuvent provoquer des brûlures et entraîner des signes de vieillissement.

Seuls des UV sont utilisés au laboratoire (023, T16).

Des signaux visuels indiquent la présence d'une source de rayonnements.

Il est indispensable de se protéger les yeux et la peau lors des manipulations.

ACCIDENT DE PERSONNE

Accident électrique

Ne pas toucher la victime directement.

Atmosphère toxique

Sans protection respiratoire, il est interdit de sortir la victime, si elle est à plus de 3 mètres.

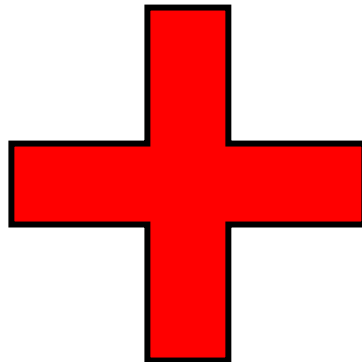
Feu de personne

Ne pas utiliser un extincteur sur une personne.

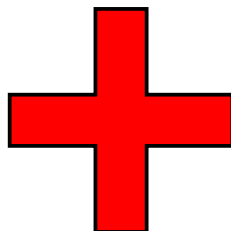
Etouffer les flammes, en se protégeant.

Alerter immédiatement

Suivre la procédure interne du Laboratoire



Procédure d'Alerte au Secours



Appelez les Sauveteurs Secouristes du Travail :

Tavella Marie-José :	poste 3532 porte : 001	} Ensat RdC
Anson Philippe :	poste 3585 porte : 031	
Liboz Thierry :	poste 3578 porte : 043	
Vailleau Fabienne	poste 3567 porte : 008	
Berseille Olivier :	poste 3576 porte : 028	
Bermudes Patrick :	poste 3585 porte : 031	} Ensat 1 ^{er} étage
Mila Isabelle :	poste 3568 porte : 112	
Frasse Pierre:	poste 3568 porte : 112	

Numéros de téléphone d'urgence :

En cas d' ACCIDENTS :

Faire le : **0** puis le : **15** (SAMU), pour les portables : **112 direct**

Centre Antipoison : Faire le **0** puis le **15** (SAMU)

Ne raccrochez pas avant qu'on ne vous le dise.

Allez accueillir les secours à l'entrée du site.

En cas d' INCENDIE :

Faire le : **0** puis le : **18**(POMPIERS)pour les portables : **112 direct**

Ne raccrochez pas avant qu'on ne vous le dise.

Allez accueillir les secours à l'entrée du site.

Adresse à précisez au secours :

INRA , AUZEVILLE

24 CHEMIN DE BORDE ROUGE

POLE DE RECHERCHE EN BIOTECHNOLOGIE,

Labo à préciser

Donnez le téléphone du poste auquel l'on peut vous rappeler, si possible restez à proximité.

II Bonnes pratiques

De

Laboratoire

BPL Fonctionnement Général

- **Produits chimiques** : Ils sont classés par ordre alphabétiques sur les étagères. Si un produit manque, le prendre dans le placard des stocks. Dans le placard des stocks, quand on prend le dernier conditionnement, inscrire d'une croix (X) sur les feuilles de commande prévu à cet effet.
- **Pour un produit nouveau** : inscrire le nom, la référence, la marque, le conditionnement et la quantité (nécessaire à la commande).
- **Déchets** chimiques et biologiques : gestionnaires pour le BAP : Anson Philippe, Bermudes Patrick
- **Poubelles des laboratoires**, 2 types :
 - *celles à papier
 - *celles à verre de laboratoire.
- **Poubelles de bureau** : elles ne doivent pas contenir de denrées alimentaires (Problème d'invasion de fourmis). Il vous est rappelé que vous avez des cafétérias pour vous restaurer.
- **Cartons** de récupération de papier à recycler : enlèvement mensuel.
- **Il est interdit** :
 - de fumer dans l'enceinte du bâtiment ENSAT, et devant les sorties à déchets.
 - de bloquer les portes extérieures d'accès en position ouverte de quelques façons que ce soit.
- **Il est obligatoire** pour la sécurité et la santé de toutes les personnes, de ranger et nettoyer la paillasse à la fin de sa manip.

Consignes cahiers de labo

- Respecter l'ordre chronologique, reporter toutes expérimentations, analyses, ou réflexions en temps réel

- Tout doit être reporté sur votre cahier :
 - les protocoles utilisés doivent être écrits au moins une fois de manière détaillée. Un simple rappel sera indiqué à chaque réutilisation

 - Les modifications de protocole voulues ou involontaires seront notées

 - Ne pas faire de sélection entre réussite et ratage

 - En cas de documents de taille importante, autoradiographe, analyse informatique, etc. un classeur « annexe » sera utilisé (date, identification, avec traçabilité au niveau de cahier de laboratoire).

- Ne pas sauter de pages

- Ne pas éliminer de pages

- Ne pas sauter les lignes de manière intempestive

- Faire viser votre cahier 1 fois par semaine par votre responsable (à définir au cas par cas)

- Ne pas utiliser de Blanco

- Raturer sans gribouillage excessif

- Ecrire au stylo ou à l'encre indélébile (pas de crayon ou d'encre effaçable)

- Tout document insère dans le cahier de laboratoire doit être « tamponné » ou signé .

Redistribution et allocation des pipetman

Deux pipetman sont attribués à chaque chercheur. Ceux ci sont responsables de leur vérification, et de leur entretien. Les pipetman communs attribuées aux paillasse et aux laboratoires sont sous la responsabilité des chercheurs en ce qui concerne leur entretien. Leur vérification et étalonnage est sous la responsabilité de P. Anson

Par chercheur :

- p200
- p20

Par paillasse (2 postes de travail max.) :

- p1000
- p10

Par Laboratoire :

- p5000

Par activité :

- p1000 de plus en CIV et patho.

Du bon usage de l'informatique au laboratoire

Droits et devoirs des utilisateurs

Charte informatique de l'INPT

➤ Tout utilisateur s'engage à utiliser les moyens informatiques et réseaux mis à sa disposition dans le cadre exclusif de l'INPT et aux seules fins qui lui sont normalement dévolues. Toute autre utilisation devra faire l'objet d'accords spécifiques.

➤ Tout utilisateur perd son habilitation à utiliser les moyens informatiques et réseaux de l'INPT dès cessation, même provisoire, de son activité à l'INPT.

Charte informatique de l'INPT

➤ **Lorsque l'accès au réseau et autres postes informatiques se fait au moyen d'un compte muni d'un mot de passe, ce compte peut être personnel ou partagé dans le cas d'un projet commun. Les utilisateurs d'un compte multiple sont déclarés à l'administrateur du réseau et considérés comme co-responsables de ce compte.**

➤ **Tout utilisateur s'engage à ne jamais communiquer son mot de passe ni à prêter son compte à un tiers.**

Charte informatique de l'INPT

➤ Tout utilisateur d'un système informatique de l'INPT s'engage à ne procéder à d'autre copie de fichiers que celles expressément autorisées par leur propriétaire ou par l'administrateur du système, s'il y en a un.

➤ Les utilisateurs s'engagent à ne pas modifier les connexions et configuration de leur poste de travail sans l'accord explicite des personnels chargés de gérer les ressources informatiques en cause.

Règles d'utilisation des ordinateurs

➤ **Etre autorisé pour:**

Utiliser un ordinateur

Installer un logiciel

Modifier la configuration

➤ **Stockez vos fichiers dans votre dossier personnel**

➤ **Pensez à fermer votre session de travail**

Accès à Internet

➤ **Rappel: l'accès à Internet n'est pas gratuit**



Utilisation professionnelle

➤ **Utilisez de préférence Netscape**

➤ **Ne téléchargez pas de fichiers exécutables**

Courrier électronique

- **Utilisez Eudora**
- **Consultez régulièrement votre boîte aux lettres**
- **Nettoyez régulièrement le dossier d'annexes**
- **Attention aux fichiers joints !**

Ne jamais ouvrir un fichier joint sans vérification préalable

ANNEXES

LABORATOIRE DE BIOTECHNOLOGIE ET AMELIORATION DES PLANTES

Directeur : Michel Petitprez (porte 019)

RESPONSABLES

Radioactivité, BET : Liboz Thierry
Azote liquide, produits chimiques et déchets : Philippe Anson (031)
Produits Biologie Moléculaire : Annie Perrault (033)
Matériel consommable : Marie Josée Tavella (001), Philippe Anson (031)
Serres, phytotrons, chambres de culture : Patrick Bermudes (016)
Entretien des locaux : Catherine Giovannini (015)
Maintenance : Philippe Anson (031)
Papèterie : Catherine Giovannini (015)
Secrétariat, comptabilité, commandes: Marie Josée Tavella (001)

SECOURISTES AU BAP

Philippe Anson (031)
Marie José Tavella (012)
Bermudes Patrick (016)
Liboz Thierry (043)
Vailleau Fabienne(008)

PERSONNES COMPETENTES EN RADIOACTIVITE

Thierry Liboz (043)

Signalisation de sécurité



Protection obligatoire des mains



Protection obligatoire de l'ouïe



Protection obligatoire de la tête



Protection obligatoire des voies respiratoires



Protection obligatoire des yeux



Défense de fumer



Flammes nues interdites



Entrée interdite aux personnes non autorisées



Douche de sécurité



Premier secours



Rinçage des yeux



Sortie et issue de secours



Flèches directionnelles



Extincteur



Flèches d'indication



Téléphone pour la lutte contre l'incendie

Signalisation de sécurité



Matières inflammables



Matières explosives



Matières toxiques



Matières corrosives



Matières radioactives



Charges suspendues



Véhicules de manutention



Matières nocives ou irritantes



Risque électrique



Risque d'asphyxie



Rayonnement laser



Radiations non ionisantes



Champ magnétique important



Risques biologiques



Basse température



Matières combustibles



Danger dû au bruit



Danger général



Matériaux contenant de l'amiante

CONSIGNES GENERALES DE SECURITE EN LABORATOIRE

NE JAMAIS MANIPULER SEUL

**LES MANIPULATIONS SONT ENTREPRISES SUR DES
PAILLASSES OU SOUS DES SORBONNES PROPRES ET
DEGAGEES**

**AVERTIR LES COLLEGUES DE TRAVAIL LORS DE LA MISE
EN ROUTE DE MANIPULATIONS DANGEREUSES**

**LES MANIPULATIONS DANGEREUSES NE DOIVENT PAS
ETRE EFFECTUEES EN DEHORS DES HEURES NORMALES
DE TRAVAIL**

IL EST INTERDIT DE PIPETER A LA BOUCHE

NE JAMAIS JETER A L'EVIER DES PRODUITS CHIMIQUES

**PORTER EN PERMANENCE UNE BLOUSE COTON ET DES
QUE NECESSAIRE GANTS ET LUNETTES DE
PROTECTION, AINSI QUE MASQUE SI BESOIN**

**IL EST INTERDIT DE RENTRER DANS LES BUREAUX
AVEC LA BLOUSE DE TRAVAIL.**

**IL EST INTERDIT DE MANGER, BOIRE OU FUMER DANS
LES LABORATOIRES**

**PRECAUTIONS PARTICULIERES A L'INTENTION DES
FEMMES ENCEINTES**