

Livret d'Hygiène & Sécurité



Laboratoire BioPeroxiL

(Biochimie du peroxysome, inflammation et métabolisme lipidique)

2^{ème} étage – aile Nord – Bâtiment Gabriel

UFR Sciences Vie

6 bd Gabriel

21 000 DIJON

Dir. d'équipe : Dr Gérard LIZARD

Contacts utiles dans le laboratoire

- **Secrétaire** : Nathalie Bancod (bureau 218 – poste 62 37)
- **Personne compétente en radioprotection** : Catherine Gondcaille (bureau 221 – poste 62 03) 
- **Assistante de prévention** : Catherine Gondcaille (bureau 221 – poste 62 03) 
- **Sauveteurs secouristes du travail** : Nathalie Bancod (bureau 218 – poste 62 37), Catherine Gondcaille (bureau 221 – poste 62 03) 
- **Responsables informatique** : Pierre Andréoletti (bureau 222 – poste 62 55) et Mustapha Cherkaoui-Malki (bureau 224 – poste 62 05)
- **Responsable commandes** : Thomas Nury (bureau 221 – poste 62 03)

Contacts utiles à l'université

- **Service Hygiène et Sécurité** : Pascale Bouchot (Maison de l'U – poste 55 45)
- **Médecin de prévention** : Dr Anne Carrere (Médecine préventive 6A rue Bouchard - poste 51 61)
- **Services techniques** (Pôle patrimoine) : rue Bouchard – poste 50 70
- **Loge du bâtiment Gabriel** : 50 03

Urgences

- **Urgences médicales** : **75 06** depuis un poste téléphonique de l'université ou **03.80.66.14.68** depuis un téléphone portable (service médical de l'Université) ou le 15 (SAMU, si le service médical de l'Université ne répond pas) ; indiquer votre nom, le lieu précis de l'accident, le nombre de blessé(s), l'état de(s) la victime(s)
- **Incendie** : **50 03** (loge Gabriel) ou 75 44 (pompiers direct si pas de réponse au 50 03)
- **Urgences techniques** (extincteurs, éclairage de secours, ascenseurs, électricité, plomberie, serrurerie, alarme incendie...) : 50 70 (24h/24)

Consignes générales en hygiène et sécurité

Chacun doit :

- se préoccuper de **sa propre sécurité**, de **celle de ses collègues** ainsi que de la préservation de **l'environnement**.
- s'informer des **bonnes pratiques de travail**, des dispositions à prendre en cas d'**accident** ou de sinistre et être conscient des **responsabilités** engagées.

• Consignes de sécurité dans le bâtiment

- Ne pas obturer les portes battantes (portes coupe-feu)
- En cas d'alarme incendie, se diriger sans précipitation vers la sortie en empruntant l'escalier de l'aile Nord (petit escalier en face de la salle 212)
- **NE JAMAIS TRAVAILLER SEUL DANS LE LABO** (voir courrier de Gérard LIZARD en annexe)

• Aptitude au travail en laboratoire

Toute personne doit informer la médecine préventive en cas de problème de santé majeur, d'allergie connue à un produit, d'asthme ou en cas de grossesse. C'est le médecin de prévention qui définira dans quelles conditions la personne peut travailler.

• Prévention des accidents

Les causes les plus fréquentes d'accidents sont :

- le manque d'expérience
- la méconnaissance des installations et de l'organisation des manip
- la précipitation

Il est donc nécessaire de:

S'informer et se former :

- auprès de ses collègues, de son responsable, de l'assistant de prévention

- en consultant des ouvrages qui décrivent les dangers de la manip, les fiches de données de sécurité des produits, des catalogues...

Informer :

- en balisant les manip dangereuses (le balisage doit être propre, net, non exagéré et retiré dès que le danger n'existe plus)

Vérifier :

- le bon état du matériel à utiliser (électrodes, rotor, ...)
- respecter les consignes portées sur les étiquettes des produits chimiques ou sur les fiches de données de sécurité (voir paragraphe « risque chimique »)
- contrôler la qualité des produits (faire éliminer tout produit douteux, souillé, ancien, stocké depuis longtemps...)

Se protéger :

- en apprenant à utiliser le matériel de protection collective (sorbonnes, hottes, appareil de détection ...)
- en se protégeant individuellement : gants, blouse, lunettes, masque, écrans...

Attention en particulier aux yeux (si risques de projection, d'explosion...) et aux mains (en cas d'utilisation de produits corrosifs, de verrerie...)

S'organiser et repérer les situations dangereuses :

- situation potentiellement dangereuse : plusieurs manip indépendantes sur le même poste de travail, manip avec des étapes faites sur des postes différents
- reconstituer « l'environnement de sécurité » nécessaire à chaque manip
- **remettre le lieu en état après chaque manip** : rangement des appareils, évacuation adéquate des déchets, nettoyage

Respecter quelques règles simples :

- porter lunettes et blouses pour toute manipulation
- ne pas fumer, manger, boire, se maquiller dans le labo
- ne pas pipeter à la bouche
- ne pas inhaler un produit inconnu
- attacher ses cheveux lorsqu'ils sont longs
- avoir des chaussures qui protègent les pieds
- ne pas porter de vêtements flottants
- ne pas porter de lentilles de contact
- ne pas poser ses affaires personnelles sur ou sous les paillasses
- retirer sa blouse dans les locaux de vie (bureau, salle détente/café, salle de réunion, toilettes) : laisser sa blouse dans les salles de manip

Gérer les premières urgences :

- appeler les contacts (page2) en cas d'incendie, d'urgence médicale ou de problème technique
- en cas de feu dans le labo :
 - activer une des alarmes situées dans le couloir, essayer d'éteindre le feu (s'il démarre) avec l'extincteur le plus proche
- en cas d'urgence médicale : **PROTEGER – EXAMINER – ALERTER - SECOURIR**
 - s'adresser à un « sauveteur secouriste du travail » (SST) (voir liste page 2)
 - si vous êtes seul :
 - ❖ *si la victime parle* : l'allonger, jambes surélevées, la rassurer, la couvrir, la surveiller. Ne rien donner à boire.
 - ❖ *si la victime ne parle pas* :
 - ° *mais elle respire* : la mettre en PLS (Position Latérale de Sécurité)
 - ° *et si elle ne respire pas* : massage cardiaque

Cas spécifiques

- *personne en feu* : se rouler par terre, étouffer les flammes avec une blouse
- *projection de produits corrosifs* : lavage immédiat et prolongé (15 min minimum) à l'eau courante
- *électrisation* : couper l'alimentation, sinon s'isoler du sol avec un tabouret et tirer la victime par ses vêtements
- *intoxication* : gestes de premières urgences + tel au centre anti-poison **03.83.32.36.36** (ne pas faire vomir ou boire)
- *hémorragies* : comprimer le point de saignement.
- *fractures* : ne pas déplacer la victime
- **Remplir le registre d'hygiène et sécurité en cas d'incident (même mineur) ou d'accident** (il est avec la pharmacie, dans le placard de la cafétéria)

Droit de retrait

En cas de danger présentant une menace pour votre vie ou votre santé, vous avez le droit de quitter votre poste de travail. Avertir immédiatement les personnes concernées de l'existence de ce danger.

Risques généraux dans un laboratoire

• Risque chimique

L'utilisation de produits chimiques réactifs peut conduire à différents risques de nature physico-chimique (explosion, inflammation, dégagement de chaleur...) ou de nature toxique.

Les produits chimiques réactifs sont ainsi répertoriés dans différentes classes de danger :

ANCIENS	NOUVEAUX	CLASSES DE DANGERS
		Dangers pour la santé: toxicité aiguë
		Dangers pour la santé: mutagénicité sur les cellules germinales, cancérogénicité, toxicité pour la reproduction, toxicité pour certains organes cibles - exposition unique - expositions répétées, sensibilisation respiratoire, danger par aspiration
		Dangers pour la santé: corrosion cutanée, lésions oculaires graves
		Dangers physiques: matières corrosives pour les métaux
		Dangers pour la santé: corrosion cutanée, lésions oculaires graves Dangers physiques: matières corrosives, pour les métaux
		Dangers pour la santé: toxicité aiguë
		Dangers pour la santé: toxicité aiguë, irritation cutanée, irritation oculaire, toxicité pour certains organes cibles - exposition unique, sensibilisation cutanée
		Dangers pour la santé: mutagénicité sur les cellules germinales, cancérogénicité, toxicité pour la reproduction, toxicité pour certains organes cibles - exposition unique - expositions répétées, sensibilisation respiratoire, danger par aspiration
		Dangers physiques: matières et objets explosibles, matières autoréactives, peroxydes organiques
		Dangers physiques: gaz inflammables, aérosols inflammables, liquides inflammables, matières solides inflammables, liquides pyrophoriques, matières solides pyrophoriques, matières qui, au contact de l'eau, dégagent des gaz inflammables, matières autoréactives, matières auto-échauffantes, peroxydes organiques
		Dangers physiques: gaz inflammables, aérosols inflammables, liquides inflammables, matières solides inflammables, liquides pyrophoriques, matières solides pyrophoriques, matières qui, au contact de l'eau, dégagent des gaz inflammables, matières autoréactives, matières auto-échauffantes, peroxydes organiques
		Dangers physiques: gaz comburants, liquides comburants, matières solides comburantes
		Dangers physiques: gaz sous pression
		Dangers pour l'environnement: dangers pour le milieu aquatique

La toxicité d'un produit dépend aussi :

- de la quantité introduite dans l'organisme (dose)
- du caractère cumulatif des doses ou des effets
- de la voie de pénétration
- des aptitudes métaboliques de l'individu
- de l'état du sujet et des conditions du moment (fatigue, stress, etc...)
- des autres produits introduits dans l'organisme accidentellement ou non (autres toxiques, habitudes alimentaires, tabac, alcool, drogues, médicaments...)

Les modes de contamination et la prévention sont résumés dans le tableau suivant :

MODE DE CONTAMINATION	AGENT CAUSAL	PREVENTION
Ingestion	Risque présenté : * par le pipetage oral * par le port incorrect des gants * une mauvaise hygiène	* Interdiction de boire, fumer, manger dans le laboratoire * Porter des gants * Hygiène rigoureuse des mains * Pipetage mécanique
Pénétration par voie oculaire	Risque présenté : * par les projections et les aérosols	* Porter des lunettes * Eviter la création d'aérosols * Travailler sous sorbonne ou PSM
Pénétration par voie cutanée	Risque présenté : * par les projections * le contact direct * les blessures	* Porter des gants * Eviter les projections * Protéger particulièrement les segments de peau lésés (pansement)
Inhalation	Risque présenté : * lors des opérations de broyage, centrifugation * lors des opérations de flambage, d'homogénéisation	* Travailler sous hotte * Centrifuger en tube scellé ou fermé hermétiquement puis ouvrir les tubes sous sorbonne ou PSM * Ouvrir les ampoules sous sorbonne ou PSM

Avant toute manipulation, il est indispensable de connaître les risques et les précautions à prendre en lisant les fiches de données de sécurité et éventuellement les fiches toxicologiques ou au minimum les phrases de risques R & S.

Au laboratoire, ces fiches sont archivées par ordre alphabétique dans des classeurs situés sur l'étagère de la salle de pesées 209 (Si vous ne trouvez pas une fiche de données de sécurité,

vous pouvez la rechercher sur Internet, vous entrez le nom du produit qui vous intéresse puis « SDS » ou « FDS »).

Lire attentivement les fiches de prévention affichées dans les laboratoires (au-dessus des sorbonnes et balances, et sur les portes).

Pour le transport de produit dangereux : caler le tube dans un récipient étanche, ne s'ouvrant pas en cas de chute. Prévoir 3 emballages (type « poupées russes »).

Penser à baliser tout local et/ou matériel en contact avec un produit à risque.

En cas d'accident avec dispersion du produit, baliser la zone contaminée, avertir ses collègues et s'équiper de façon adéquate pour décontaminer.

Si le produit est répandu sur le sol ou une pailleuse, recouvrir de litière à chat (elle est stockée sur l'étagère au dessus de la pailleuse de la salle de pesées 209) pour absorber le liquide. Jeter la litière dans le bidon pour déchets toxiques (seaux blancs) solides.

Si le manipulateur est contaminé, il doit retirer ses vêtements souillés et rincer à l'eau (pendant au moins 15 min) les parties du corps contaminées.

Toute personne manipulant un produit dangereux doit l'indiquer sur sa fiche individuelle d'exposition aux produits dangereux qui sera transmise annuellement à la médecine préventive.

Produits chimiques dangereux utilisés au labo BioPeroxIL (liste non exhaustive) :

- **Cancérogènes, mutagènes, toxiques pour la reproduction (CMR) :** Acide borique (poudre), bleu trypan, bleu Evans, acridine orange, bromure d'éthidium, Hoechst, crystal violet, iodure de propidium, MTT, acrylamide, formaldéhyde, para-formaldéhyde, formamide, hexane, phénol, chloroforme, méthanol, toluène
- **Très toxiques :** azide de sodium, hygromycine B, actinomycine D, Wortmannine...
- **Acides et bases fortes :** HCl, NaOH, KOH (réactifs sur l'eau)
- **Inflammables :** acétone, éthanol, alcool isoamylique, butanol, isopropanol...
- **Fluides cryogéniques :** CO₂ et N₂ : toxiques par gelures pour l'homme

Cas particulier des produits Cancérogènes, Mutagènes, Reprotoxiques (CMR) :

Préalablement à toute manipulation, chaque personne manipulant des CMR doit avoir été formée par son encadrant ou l'assistant de prévention, ou avoir suivi une formation organisée par l'université. Elle doit également être autorisée par le médecin de prévention.

Il existe 3 catégories de risques selon la nouvelle réglementation « CLP » :

- catégorie 1A : substance connue pour provoquer un danger
- catégorie 1B : substance fortement présumée pour provoquer un danger
- catégorie 2 : substance susceptible de provoquer un danger

Classement	Symbole	Exemples
Cancérogène cat. 1A (cat. 1 selon l'ancienne réglementation)		
Cancérogène cat. 1B (cat. 2 selon l'ancienne réglementation)		crystal violet, bleu trypan, Formaldéhyde
Cancérogène cat. 2 (cat. 3 selon l'ancienne réglementation)		acrylamide, chloroforme, formamide
Mutagène cat. 1A (cat. 1 selon l'ancienne réglementation)		
Mutagène cat. 1B (cat. 2 selon l'ancienne réglementation)		Acrylamide, hoechst 33 342,
Mutagène cat. 2 (cat. 3 selon l'ancienne réglementation)		Acridine orange, BET, cycloheximide, chloroforme, Formaldéhyde, iodure de propidium, phénol, MTT
Toxique pour la reproduction cat. 1A (cat. 1 selon l'ancienne réglementation)		
Toxique pour la reproduction cat. 1B (cat. 2 selon l'ancienne réglementation)		Formamide, acrylamide
Toxique pour la reproduction cat. 2 (cat. 3 selon l'ancienne réglementation)		Acide borique, hexane, toluène

Et d'autres....

Respectez particulièrement les consignes de manipulation.

Stockage : éviter la dissémination des lieux de stockage, baliser le lieu de stockage.

Préparation de solutions : privilégier l'achat de solution pour éviter la manipulation de poudre, manipuler sous sorbonne ou hotte à flux laminaire pour préparer les dilutions, ne pas peser une quantité exacte (limiter les manip), prévoir un récipient incassable, résistant au produit et au solvant, hermétique.

• **Risque biologique**

Il concerne les expérimentations en bactériologie et en culture cellulaire.

Avant toute manipulation, chacun doit savoir à quelle classe de pathogénicité pour l'homme appartient le micro-organisme qu'il va cultiver.

Le classement est le suivant :

<p>Classe 1 Confinement L1</p>	<ul style="list-style-type: none"> * Micro-organismes non génétiquement modifiés de classe 1 (n'ayant aucun pouvoir pathogène pour l'homme et ne constituant pas une menace pour l'environnement) * Micro-organismes non pathogènes génétiquement modifiés portant des fragments d'ADN étranger sans pouvoir pathogène * Cellules animales et végétales normales ou immortalisées et plantes transgéniques ne produisant pas de virus ou ne produisant que des virus de classe 1, Ea1 ou Ep1
<p>Classe 2 Confinement L2</p>	<ul style="list-style-type: none"> * Micro-organismes non génétiquement modifiés de classe 2 (qui peuvent provoquer des maladies chez l'homme mais dont la dissémination dans l'environnement est peu probable, qui sont sans risque pour la collectivité et contre lesquels une prophylaxie ou des traitements efficaces sont connus) * Micro-organismes génétiquement modifiés de classe 2 dans lesquels les vecteurs ou les séquences clonées n'augmentent pas la classe de risque * Micro-organismes non pathogènes génétiquement modifiés portant, soit des gènes codant pour des protéines ayant un pouvoir pathogène limité, soit des fragments importants de génome de micro-organismes de classe 2, Ea2 ou Ep2 * Cellules animales exprimant un virus de classe 2 ou Ea2
	<ul style="list-style-type: none"> * Cellules animales abritant des vecteurs d'expression qui contiennent des gènes codant pour des protéines ayant un pouvoir pathogène limité ou des fragments de génomes humains ou d'animaux inconnus ou des fragments importants de génome de micro-organismes de classe 2 ou Ea2 * Cellules végétales et plantes transgéniques produisant des virus de classe Ep2

Au laboratoire BioPeroxLL, les micro-organismes utilisés en biologie moléculaire sont toutes des bactéries de classe 1.

Les lignées cellulaires animales utilisées en culture cellulaire peuvent être de classes 1 ou 2. Cependant, elles seront toutes cultivées en confinement 2 en salle 215A, 215B ou 215C.

Liste non-exhaustive des lignées cellulaires cultivées au laboratoire BioPeroXLL :

Nom	Ref. ATCC	Origine	Type cellulaire	Lignée transformée?	Confinement recommandé
Fibroblastes WT		Homme	Peau		L2
Fibroblastes X-ALD / ACOX		Homme	Peau		L2
SK-N-BE	CRL-2271	Homme	Cerveau - neuroblastome		L1
HepG2	HB-8065	Homme	Foie - hepatocarcinome		L1
ARPE 19	CRL-2302	Homme	Epithélium pigmentaire		L1
U937	CRL-1593.2	Homme	Lymphocyte		L1
C6	CCL-107	Rat	Cerveau – cellule gliale		L1
H4IIEC3 + clones 28.38 et 19	CRL-1600	Rat	Foie - hepatome		L1
N2A	CCL-131	Souris	Cerveau - Neuroblastome		L1
BV2		Souris	Cerveau - Microglie	X	L2
158N		Souris	Cerveau - Oligodendrocyte	X	L2
Raw 264.7	TIB-71	Souris	Macrophage	X	L2

Rappels généraux sur les bonnes pratiques en laboratoire de confinement 1 (L1) :

- Porter une blouse
- Porter des gants si nécessaire (plaie aux mains)
- Se laver les mains avant et après la manipulation
- Désinfecter le plan de travail avant et après la manipulation, ainsi qu'après une contamination
- Eliminer les déchets solides dans des conteneurs spécifiques (poubelles jaunes) ; inactiver (à la Javel) les liquides contaminés avant élimination à l'évier. Rq : Dans le

cas des **OGM de niveau I**, les déchets solides seront également décontaminés à la Javel avant élimination dans les poubelles jaunes.

- Les aiguilles et matériels coupants usagés sont collectés dans une poubelle spéciale jaune (**ne pas recapuchonner les aiguilles > risque de piqûre**)
- En cas de contamination du matériel, nettoyer avec un détergent puis désinfecter à l'éthanol 70°
- Eviter la création d'aérosols et de projections :
 - Une suspension de micro-organismes ne doit jamais être mélangée par aspirations et refoulements successifs à travers une pipette et chassée brutalement
 - Il est recommandé de faire s'écouler les liquides le long de la paroi intérieure du tube en dessous de la surface du liquide contenu dans le récipient

Rappels généraux sur les Bonnes Pratiques en laboratoire L2 :

- Suivre une formation par son encadrant ou par l'assistant de prévention avant toute manipulation
- Porter une blouse spécifique, des gants (changés régulièrement)
- Manipuler seul, sous PSM de type II, dans une pièce ventilée réservée à la manipulation de micro-organismes de niveau II
- Utiliser du matériel présent dans la pièce uniquement
- Eliminer les déchets solides dans des conteneurs spécifiques (poubelles jaunes) ; inactiver les liquides contaminés avec de l'eau de Javel avant élimination à l'évier
- En cas de contamination du matériel, nettoyer avec un détergent puis désinfecter à l'éthanol 70°
- Eviter la création d'aérosols (voir ci-dessus)
- Participer au nettoyage régulier des équipements de culture cellulaire (incubateur, PSM, centrifugeuse...)

• Risques liés à l'expérimentation animale

• Evaluation éthique et autorisation des projets de recherche

Tout projet de recherche qui inclut le recours à l'expérimentation animale doit faire l'objet d'une évaluation éthique favorable délivrée par un comité d'éthique agréé. Il doit obtenir une autorisation délivrée par le ministère de la recherche.

Pour manipuler des animaux, il faut :

• être formé à l'expérimentation animale :

2 niveaux de formation possible :

niveau B (ex niveau I) : pour chercheur, concepteur de projet, assurant la responsabilité scientifique directe de l'expérimentation sur les animaux

niveau A (ex niveau II) : personne, notamment technicien, appelée à participer directement aux expériences

• suivre la règle des 3 R

- Remplacement : des espèces sensibles par des espèces moins sensibles ou « non vivantes » (in vitro)

- Réduction : du nombre des animaux au minimum nécessaire à l'obtention de résultats valides, et aux seules expériences essentielles

- Raffinement : i.e. réduction de la souffrance animale (anesthésiques et analgésiques indispensables)

• Quels risques et quelles précautions ?

Contamination par des microbes portés par un animal apparemment sain : en particulier cas des zoonoses (peuvent être mortelles !)

- à travers la peau : morsure, griffure, piqûre...

⇒ laver au savon de Marseille puis désinfecter

◆ Prévention : gants de contention et latex, se laver les mains

- voie conjonctivale: aérosols, éclaboussures, oculaires de microscope contaminés, frottement des yeux avec des mains sales

⇒ laver 15 min au rince-œil + collyre antiseptique selon le médecin

◆ Prévention : se laver les mains, porter des lunettes

- par ingestion : rare, en portant à la bouche des mains souillées

⇒ ne pas faire vomir, ne pas faire boire, voir un médecin en urgence

◆ Prévention : pas de pipetage oral, lavage des mains, changement des gants, ne pas boire manger fumer, changer de blouse entre l'animalerie et les labos

- par inhalation : rare

◆ Prévention : éviter la production d'aérosols (balayage), ne pas fumer, porter un masque

• Risque radioactif

⇒ **Voir Catherine Gondcaille (Personne Compétente en radioprotection)**

Pour toute personne amenée à manipuler la radioactivité, une formation théorique organisée annuellement par l'université ainsi qu'une formation pratique en interne sont obligatoires.

Fonctionnement général du laboratoire

• Equipement de protection individuelle

- Tout manipulateur doit être équipé d'une blouse en coton et de lunettes de sécurité.
- Le nettoyage des blouses est assuré par Marie-Thérèse, une fois par semaine => déposer sa blouse à laver dans le bac à linge bleu à l'entrée du bloc de culture.

• Autoclavage et stérilisation

- soit avec le petit autoclave (salle 209). Pour la première utilisation, demander conseil à un utilisateur régulier ou à l'assistante de prévention.
- soit avec l'autoclave commun avec le labo du rez-de-chaussée de notre aile, pour les pointes et tubes de préférence, car il existe une étape de séchage avec cet appareil (salle R12, rez-de-chaussée, voir avec Marie-Thérèse)

• Eau (salle 209)

Le système de purification d'eau permet d'avoir :

- de l'eau distillée (gros réservoir blanc). Cette eau est utilisée pour le rinçage de la vaisselle, pour alimenter la machine à glace, pour préparer des tampons d'électrophorèse...
- de l'eau ultra pure (= MilliQ). Elle est utilisée pour faire des solutions nécessitant une qualité d'eau DNase-, RNase-free.

- Ne pas toucher à l'appareil MilliRO.
- Veiller à toujours bien refermer les robinets d'eau distillée et d'eau MilliQ.

• Vaisselle

- Chaque personne est responsable de sa vaisselle sale et doit assurer son nettoyage.
- Laver les éprouvettes en verre à la main (elles cassent au lave-vaisselle) puis les rincer à l'eau du robinet puis à l'eau distillée.
- Conserver les pipettes en verre sales et les laver à la machine.

- Ne pas stocker de vaisselle sale sur les bords des éviers (on ne sait plus si c'est propre ou sale ; c'est en déséquilibre, on risque de faire de la casse et de se blesser...).
- Rincer rapidement la vaisselle sale avant de la mettre dans les bacs (sinon il reste des cristaux ou de l'agarose au fond des béciers ce qui bouche le lave vaisselle au moment du lavage...).
- Ranger la vaisselle propre dans les placards en respectant l'organisation. Ranger les flacons avec leur bouchon. Attention, les bouteilles et bouchons marqués CC sont destinés à la culture cellulaire et doivent être autoclavés puis stockés en salle de culture (les flacons marqués BM et ceux sans indication étant destinés aux solutions de biochimie ou biologie moléculaire).
- Bien fermer les vitres des placards pour éviter la poussière.

• **Produits chimiques (salle 209)**

- La pesée des produits s'effectue soit sur la balance en salle 209 pour les produits sans risque, soit sur la balance salle 210, sous la sorbonne, pour les produits à risque.
- Ne pas mélanger les produits non-dangereux (étagères) et les produits à risques (armoire grise ou armoire acides-bases).
- Respecter le rangement par ordre alphabétique des produits.
- Après pesée, nettoyer soigneusement les balances et leurs environs (pas avec un pinceau, ça soulève les poussières, mais avec du papier absorbant humide).
- Avant qu'un produit vienne à manquer, le mettre en commande, prévenir Thomas.
- Après utilisation du pHmètre, nettoyer la sonde à l'eau MilliQ abondamment puis remettre la sonde dans la solution de stockage (KCl 3 M).
- Le bromure d'éthidium se manipule uniquement en salle 212 : zone à gauche en entrant jusqu'à l'évier, et à droite en entrant jusqu'au bout de la paillasse d'électrophorèse. Aucun matériel ayant été en contact avec du BET ne doit sortir de cette pièce. Les poubelles pour liquides et solides contaminés au BET se trouvent sous la paillasse d'électrophorèse. Idem pour l'acrylamide qui se manipule sur la paillasse de gauche de cette même pièce.
- les autres CMR tels que l'iodure de propidium, l'acridine orange, le crystal violet, le Hoechst 33342... sont manipulés uniquement en salle 211 sous la sorbonne réservée à cet usage. Les déchets sont évacués dans les mêmes conteneurs que le BET.

• **Azote et bouteilles de gaz**

- Une bouteille doit toujours être attachée par une chaîne (au mur ou sur le chariot)
- Voir avec Thomas pour le remplacement des bouteilles de gaz.

- Pour le transport d'une bouteille (sur le chariot), entre le labo et le sous-sol, utiliser l'ascenseur mais uniquement pour la bouteille (ne pas « accompagner » la bouteille).
- Respecter les consignes de manipulation des bouteilles de gaz affichées à proximité des bouteilles.

• Culture cellulaire (voir annexe)

- Lavage des mains : savonner 30 secondes, rincer à l'eau puis à l'éthanol
- Les salles de culture sont pressurisées, penser à refermer correctement et doucement les portes derrière soi.
- Veiller à l'entretien du matériel (hottes, incubateurs, bain-marie, centrifugeuses) et à l'approvisionnement des incubateurs en CO₂. Voir avec Catherine.

• Utilisation du matériel

- Veiller à bien refermer les portes des frigos, congélateurs et de la machine à glace.
- Limiter le temps d'ouverture des congélateurs (sinon ça fait plein de glace !).
- Couper les vannes d'arrivée de gaz après usage.
- En prévision de l'utilisation des centrifugeuses, thermocyclers, sécheurs de gel, appareillage d'électrophorèse..., réserver quelques jours avant (se noter sur un post-it ou sur un calendrier).
- Demander conseil pour la première utilisation des centrifugeuses (et de tout autre appareil).
- Après mise en route d'une centrifugeuse, attendre jusqu'à ce qu'elle atteigne la vitesse voulue. Si on entend un bruit bizarre, stopper immédiatement la CF et vérifier le positionnement et l'équilibrage des tubes.
- Veiller à toujours enlever les rotors des grosses centrifugeuses après utilisation et les ranger dans leur portoir en polystyrène pour qu'ils sèchent. Les laver (avec le détergent prévu à cet effet) et les rincer à l'eau si nécessaire (en particulier si contamination bactérienne lors des maxiprep d'ADN).
- Remplir le cahier d'utilisation pour les CF JA-20, JA-14 et ultra-CF.
- Micro-ondes : pas de pièce métalliques à l'intérieur (spatules, papier alu...)
- Sorbonnes : pour une bonne utilisation, descendre la vitre au niveau du trait noir, sinon elle sonne car l'extraction d'air n'est pas correcte.
- En cas de problème sur un appareil, s'adresser à Thomas ou Catherine.

- **Stockage à 4°C / -20°C / -80°C**

- Chaque équipe possède ses propres lieux de stockage dans les frigos et congélateurs. Se référer à son encadrant pour stocker ses échantillons au bon endroit et éviter de les perdre.
- **Les produits, milieux de culture, échantillons... doivent TOUS être IMPERATIVEMENT clairement IDENTIFIES : nom-prénom ou initiales du propriétaire ET date. Les échantillons non-identifiés seront jetés lors du prochain tri des lieux de stockage.**
- Ne pas stocker les tubes sur des portoirs mais dans des boîtes ou des sachets.
- Eliminer les solutions, échantillons... qui ne nécessitent pas d'être conservés.
- **Chaque stagiaire doit faire le tri de ses échantillons dans les frigos/congels avant de quitter le laboratoire.**

- **Pour une bonne entente au sein du labo**

- Nettoyer les plans de travail « communs » après son passage. Ils doivent rester propres et rangés après utilisation (en particulier : hottes, balances, pHmètres, poste microbio...)
- Quand elles sont vides, remplir les bouteilles d'eau de Javel (pastilles chez Marie-Thérèse à diluer qsp 1 litre avec de l'eau du robinet), les pissettes d'éthanol 70° (stock dans la laverie), les pissettes et bonbonnes d'eau distillée.
- Pensez que vous n'êtes pas seul à manipuler et que le respect de chacun commence par le respect de l'état des lieux et matériels communs.
- Après 18 heures, fermer à clé automatiquement les portes de toutes les pièces.

Tri des déchets au laboratoire

- voir l'assistante de prévention (Catherine) pour l'approvisionnement et l'élimination des poubelles de déchets spécifiques (acides, bases, solvants, CMR, emballages souillés, déchets biologiques)

• Déchets biologiques

- Milieux liquides :

Ils doivent être décontaminés par l'eau de Javel quel que soit leur niveau de confinement. Laisser décontaminer une nuit minimum puis jeter à l'évier.

- Solides :

Boîtes de Petri, gants, papier absorbant, flacons de culture, tubes divers, corps de seringues, pointes et pipettes... **contaminés** doivent être jetés dans les poubelles jaunes quels que soient le niveau de confinement et l'espèce d'origine de la souche bactérienne ou de la lignée cellulaire. Les pipettes seront évacuées dans les poubelles jaunes en plastique, le reste dans les poubelles jaunes en carton. Ne pas jeter de déchets coupant / tranchant dans les poubelles jaunes en carton.

Ces poubelles jaunes sont disponibles soit dans le local « bouteilles de gaz » à côté du sas de culture soit sous la paillasse de bactério. Quand elles sont pleines, les stocker dans l'entrée du bloc de culture (à côté des bobines de papier).

• Objets piquants ou coupants (souillés ou non par des cellules ou tissus...)

Aiguilles, scalpels, lames de cutter...

Risques : de blessures ou de piqûres associés éventuellement à une contamination (biologique ou chimique).

Tri : Stocker dans les emballages jaunes de type « boîtes à aiguilles » mis à disposition dans les salles de manips. Ne pas reboucher les aiguilles avant de les jeter (risque de blessure).

• Produits cancérigènes, mutagènes ou reprotoxiques (CMR)

Risques : Toxicité par ingestion, inhalation, pour les yeux, les voies respiratoires et la peau selon le produit considéré.

Tri : - Gels, tubes, pointes, pipettes en plastique ou verre... souillés : dans les seaux blancs.

- Tampons : dans le bidon blanc et bleu noté « LIQUIDES SPECIFIQUES » (sous la paille d'électrophorèse, salle 212).

• Acides, bases et liquides organiques inflammables

Risques : Toxicité pour la peau et les muqueuses (oculaire, nasale, respiratoire, digestive).

Tri : Des bidons de stockage avec étiquette sont prévus pour chaque catégorie et entreposés dans les salles 206 et 207.

Etiquette rouge : pour les liquides organiques inflammables (2 bidons)

- ⇒ 1. Liquides organiques inflammables chlorés
- ⇒ 2. Liquides organiques inflammables non-chlorés

Etiquette verte : pour les bases fortes

Etiquette jaune : pour les acides forts

Attention aux produits incompatibles (voir fiche technique en annexe et affichée à proximité des bonbonnes)

Si vous avez un doute, demander conseil à l'Assistante de Prévention !

NE JAMAIS METTRE D'ACIDE NITRIQUE DANS LES BIDONS !

• Déchets de type verre ou verrerie et emballages

- **verre ordinaire** (bouteille de vin vide, verre à boire) : à stocker dans la bassine bleue de la cuisine qui sera vidée régulièrement par Marie-Thérèse (dans les conteneurs à verre au sous-sol). Rincer les bouteilles avant de les jeter.
- **verrerie de laboratoire cassée** (éprouvette, erlenmeyer, bécher...) : à stocker dans un seau blanc (sous évier, salle 210).
- **emballage en verre, métal ou plastique souillé par des produits chimiques (dangereux ou non)** : à stocker dans la grosse poubelle noir sous l'évier salle 210. Remettre les bouchons sur les emballages pour qu'il n'y ait pas de fuite de produit. Ne pas rincer les flacons avant de les jeter.

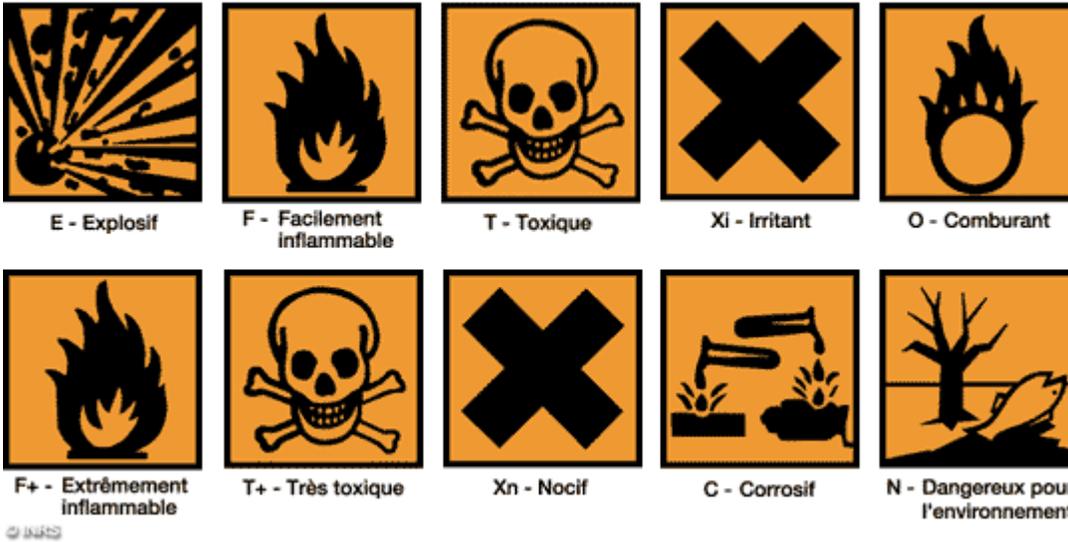
- **Produits chimiques purs ou concentrés ne pouvant pas être éliminés dans les conteneurs cités ci-dessus**

- laisser dans l'emballage d'origine avec l'étiquetage en bon état
- donner à l'Assistante de Prévention qui se chargera de son évacuation

Voir aussi en annexe la « procédure de tri et d'élimination des déchets chimiques » rédigée par le service d'H & S de l'Université.

Annexes

- **Symboles et indications de danger (ancienne signalétique)**

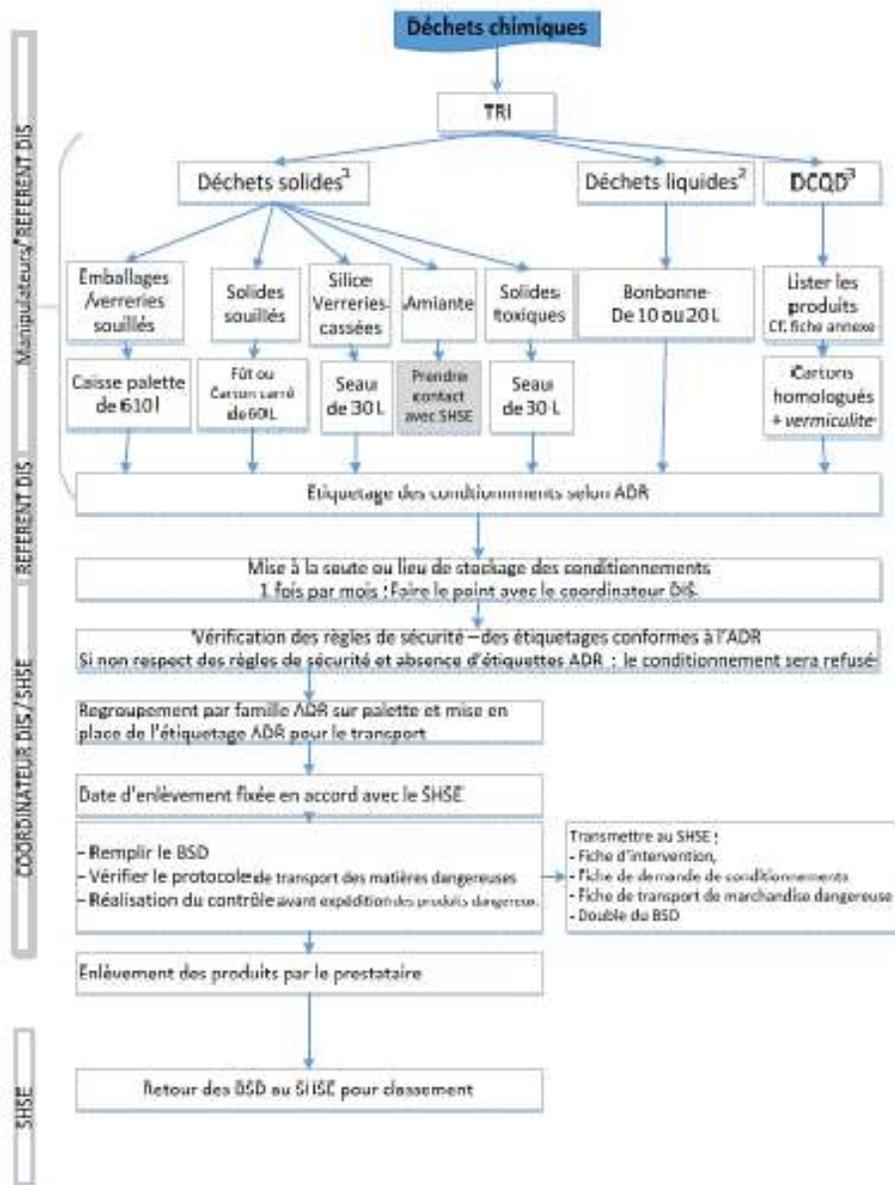


- **Symboles et indications de danger (nouvelle signalétique)**



Version	Date de modification	Rédacteur (service)	Vérificateur (service)	Approbation (service)	Evolution
0	12/12/2006	SHSE			
1	16/06/2011	SHSE		CHS – le 4 /07/2011	Nouvelle collection de bidons
2	12/04/2017	SHSE – le 12/04/2017	Référent/coordinateur DIS – le 10 mars 2017		Modification de l'organisation de la gestion des déchets chimiques sur le campus de Montmuzard

Cette procédure s'applique à toutes les personnes générant ou étant susceptible de générer des déchets chimiques au sein de l'Université de Bourgogne.



Pour tous les produits, consulter les fiches de données de sécurité pour connaître les incompatibilités du produit, les précautions de stockage et d'élimination, les précautions en cas de déversement accidentel (en annexe : le tableau d'incompatibilité des principaux produits peut vous aider mais ne remplace en aucun cas les renseignements donnés dans la fiche de données de sécurité)

En cas de doute : Prendre contact avec le référent DIS de votre site ou Pascale BOUCHOT

(1) PRODUITS CHIMIQUES SOLIDES :

- Regroupement dans les seaux de 30 litres pour deux utilisations distinctes :
 - collecte des consommables souillés par des produits toxiques lors des manipulations,
 - collecte de verreries Pyrex cassées ou silice
- Regroupement dans les néofuts de 60 litres pour :
 - collecte des consommables souillés par des produits toxiques lors des manipulations.
- Regroupement dans les cartons carrés de 60 litres pour :
 - collecte des consommables souillés non en vrac (sous validation du SHSE)

☞ Les emballages sont fermés sur le site de production (salle d TP/ laboratoire).

☞ Le référent DIS colle les étiquettes UN et logo ADR avec la liste des produits rédigée par le producteur du déchet (cf. liste en annexe) et qui sera accrochée à l'emballage.

☞ Le seau /fût est déposé à la soute du bâtiment selon les consignes mis en place localement.

(1) EMBALLAGES SOUILLES (BOUTEILLES OU BIDONS – hors HF (acide fluorhydrique):

Les bouteilles ayant contenu des produits chimiques doivent être éliminées par la filière d'élimination des déchets chimiques.

Règles de sécurité :

☞ Vider les bouteilles ou les bidons selon les règles de « sécurité » et « de la protection de l'environnement ».

☞ Ne pas rincer et reboucher les bouteilles ou bidons.

☞ Mettre ces contenants dans les conteneurs appropriés dans la soute définie pour le bâtiment.

Procédure d'élimination :

☞ L'élimination des contenants vides sera programmée en fonction du remplissage des conteneurs « caisse-palette ».

☞ Avant la fin du remplissage de la caisse – palettes, le référent DIS prendra contact avec le coordonnateur DIS pour vérification et enregistrement de l'enlèvement : arnaud.croq@u-bourgogne.fr.

(2) PRODUITS CHIMIQUES LIQUIDES EN BIDONS DE 20 litres ou 10 litres :

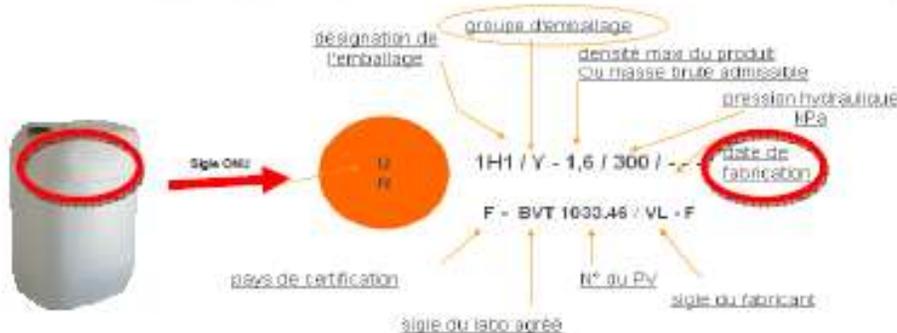
☞ Regroupement dans les bidons de 20 litres « Acide » « Base » « Liquides organiques neutres non chlorés » « Liquides organiques neutres chlorés » « Liquides spécifiques »

Solvants inflammables



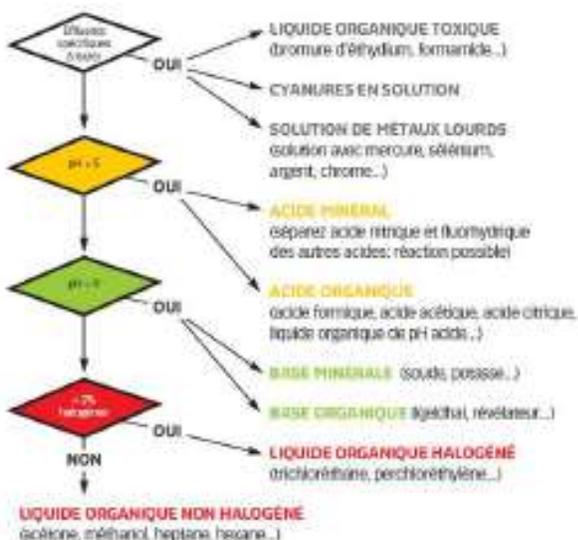
Règles de sécurité :

- N'utiliser que les bidons homologués.
- **Respecter le niveau de remplissage des bidons.**
- Les liquides inflammables doivent être conditionnés dans les bidons organiques
- Pour éviter les erreurs de transvasement, ne jamais mettre un bidon d'acide à proximité d'un bidon de base et d'un bidon pour les solvants.
- Ne pas mélanger des produits incompatibles (Cf. annexe).
- Contrôler, toujours, le type du contenant (acide, base, solvant ou dangereux pour l'environnement) avant d'effectuer le transvasement.
- En cas de quantité importante d'un même produit, utiliser un bidon et ne pas mélanger avec les autres produits et identifier ce produit.
- Pour un nouveau produit, avant transvasement dans les bidons, consulter la fiche de données de sécurité et ne pas se limiter à la lecture de l'étiquette (chapitre 9 et 10 de la fiche de données de sécurité : propriété physico-chimique et stabilité du produit et réactivité).
- **Ne pas ôter la bague de garantie.**
- Remettre les bouchons sur les bidons.
- Respecter la validation du bidon pour le transport des matières dangereuses (< à 5 ans)



Ne jamais mettre d'acide nitrique en mélange avec les autres acides

Tri des produits par famille chimique et par leurs risques :



Procédure d'élimination :

- ☞ Il faut indiquer les produits majoritaires présents dans le bidon. Une liste doit être mise en place ou remplir l'étiquette sur le bidon. **Indispensable pour pouvoir attribuer un code UN (ADR) pour le transport qui sera attribué par le référent DIS**
- ☞ Remplir la fiche d'enlèvement en indiquant « bidon acide ou base ou solvant ou spécifiques » Réf : **Enlèvement DIS - SHSE - 2017 (cf. annexe)** et faire une demande de bidons vides et d'étiquettes correspondantes sur cette fiche.
- ☞ Renvoyer cette fiche au référent DIS de votre site pour vérification et validation des consignes de sécurité
- ☞ Apporter le conditionnement à la soute du bâtiment.
- ☞ Ensuite le référent contactera Monsieur CROG Arnaud (arnaud.crog@u-bourgogne.fr), pour vérification et enregistrement.
- ☞ Il est programmé plusieurs ramassages par an (prendre contact au 5545 si besoin).

Procédure d'utilisation des pièces de culture

1/ Avant la manip, réservez votre créneau sur le planning affiché sur les portes des pièces. **Inscription obligatoire.**

2/ Toutes les pièces sont en confinement 2 c'est-à-dire que toutes les lignées cellulaires sont manipulées en confinement 2 (même les lignées de classe 1).

3/ Pour manipuler, entrez directement sans blouse dans le sas, enfiler des sur-chaussures, lavez-vous les mains puis lorsque vous êtes dans le L2 enfiler la blouse jetable et les gants recommandés en niveau 2 (les blouses en cours d'utilisation seront stockées dans leur sachet plastique d'origine avec le nom du propriétaire, dans la caisse sous l'évier et ne sortiront pas de la pièce). Vous quitterez donc blouse et gants avant de sortir de la pièce. Quand nécessaire, jetez la blouse dans la poubelle jaune (le stock neuf de blouses jetables se trouve dans l'entrée du bloc 215).

En raison de la pressurisation des pièces, pensez à refermez **systématiquement** les portes du sas et des pièces derrière vous.

4/ Allumez le PSM une dizaine de minutes avant utilisation. Nettoyez rapidement le PSM à l'éthanol. Avant chaque manipulation, nettoyez à l'éthanol la poubelle « déchets liquides » (pot en plastique ou en alu) avant de l'installer dans l'enceinte du PSM.

5/ Le premier utilisateur de la journée vide la poubelle d'effluents javellisés à l'évier (notée « décontamination à la Javel pendant 12h »), laisse couler 2-3 minutes l'eau du robinet et remet un fond d'eau de Javel dans la poubelle.

6/ Respectez les consignes d'utilisation du PSM :

- pas de stockage sous le PSM
- limiter le nombre de tubes et de boîtes
- manipuler au plus loin de la veine de garde
- ne pas s'appuyer sur la veine de garde
- ne pas faire couler de milieu sous le plateau, sinon nettoyer

7/ Respectez les consignes d'utilisation des autres matériels de la pièce :

- veiller à ne pas aspirer de milieu jusque dans le filtre du pipetaid, sinon changer le filtre
- mettre en charge le pipetaid après utilisation
- vérifier que l'incubateur est bien fermé

8/ Elimination des déchets

- en fin de manip, ajoutez une goutte de javel dans la poubelle « déchets liquides » sous le PSM, transvasez ensuite dans la poubelle pour effluents javellisés
- évacuer les déchets biologiques solides dans la poubelle jaune, les déchets non biologiques dans le sac noir, dans le SAS

- les poubelles jaunes ne sortent des pièces de culture que lorsqu'elles ont été fermées hermétiquement

9/ Fin de la manipulation

- nettoyez le PSM à l'eau (si milieu renversé) puis à l'alcool (côtés, dessus et dessous du plateau)
- faites-le fonctionner encore une dizaine de minutes
- lavez-vous les mains avant de sortir du sas

10/ Entretien du matériel

- 1 fois/mois les PSM, incubateurs et bain-Marie sont nettoyés selon les consignes affichées sur les appareils
- pensez également à nettoyer régulièrement à l'éthanol les paillasses, les boutons des centrifugeuses, les plate-formes, molettes et oculaires des microscopes, les poignées et portes des incubateurs et des pièces

11/ Alimentation et répartition du consommable plastique

- le consommable en emballage unitaire (pipettes 25,10, 5 ml, plaques x puits) ainsi que les cryotubes, les tubes de 15 et 50 ml sont communs. Pensez à vérifier et au besoin à renouveler les stocks avant de quitter la pièce.
- le consommable de type boîte de Pétri, bocal de tubes eppendorf ou boîtes de pointes sont personnels. Chacun veillera donc à indiquer son nom dessus et à les ranger dans les placards.

Laboratoire Bio-PeroxlL

Biochimie du Peroxysome, Inflammation et Métabolisme Lipidique
Université de Bourgogne - Faculté des Sciences Gabriel
6, boulevard Gabriel - F21000 DIJON

Dijon, le 09 janvier 2012

A tous les membres permanents ou stagiaires du laboratoire BioPeroxlL

Mesdames, Mesdemoiselles, Messieurs, chères collègues,

Je rappelle qu'il est de la responsabilité des chefs de laboratoire de faire appliquer les consignes de sécurité, en particulier concernant la présence au laboratoire en dehors des heures habituelles de travail et des jours ouvrables (lundi à vendredi).

Aussi, entre 20:00 le soir et 7:30 le matin, les jours ouvrables, et quelle que soit l'heure en dehors des jours ouvrables, toute personne manipulant au laboratoire devra être obligatoirement accompagnée d'au moins une personne dans les locaux du dit laboratoire.

Dans ces conditions, il est demandé de s'inscrire au moins la veille sur un registre de présence disponible au secrétariat.

En comptant sur votre compréhension et restant à votre disposition.

Bien cordialement,



Gérard Lizard,
Directeur du laboratoire

Téléphone : 03 80 39 62 37 - Télécopie : 03 80 39 62 50
<http://lbnm.u-bourgogne.fr>