

Chapitre I : Précaution à prendre dans un laboratoire et utilisation du matériel courant

I. Les différents types de risque au laboratoire

1- Risques chimiques

Les risques associés à un produit chimique donné dépendent de sa nature et de ses propriétés physico-chimiques, des moyens de protection mis en œuvre et de la durée d'exposition. C'est sur les deux derniers critères que l'on peut jouer : c'est-à-dire utiliser des moyens de protection adéquats et limiter au maximum le temps d'exposition.

a- L'évaluation du risque chimique

Les informations concernant les dangers d'un produit chimique donné sont disponibles sur l'étiquette du flacon et sur sa fiche de données de sécurité.

L'étiquette regroupe les informations suivantes :

o le nom du produit et son n° CAS (Chemical Abstracts Service) qui permettent de se référer à la fiche de données de sécurité.

o les symboles de danger



T+=Très toxiques ou T=Toxiques

Pouvant, par inhalation, ingestion ou pénétration cutanée en petites quantités, entraîner la mort ou des risques aigus ou chroniques pour la santé

Ex. : azoture de sodium, phénol, méthanol, mercure



F=Facilement inflammables

Ex. : acétone, cyclohexane, acétate d'éthyle, éthanol, méthanol

F=Extrêmement inflammables

Ex. : Cyanure d'hydrogène, oxyde d'éthylène, éther diéthylique



Xn = Nocives

Pouvant, par inhalation, ingestion ou pénétration cutanée, entraîner la mort ou des risques aigus ou chroniques pour la santé

Ex. : chlorobenzène, xylènes



O = Comburantes

Présentant, au contact d'autres substances, notamment inflammables, une réaction fortement exothermique

Ex. : acide nitrique, peroxyde, chlorate...



Xi = Irritantes

Pouvant, par contact immédiat, donner lieu à une réaction inflammatoire de la peau ou des muqueuses

Ex. : ammoniac < 35 %, acide chlorhydrique entre 10 et 15 %



E = Explosif

Sensibilité thermique ou mécanique

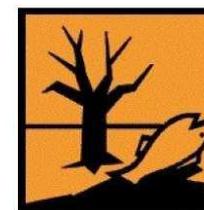
Ex. : peroxyde de benzoyle



C = Corrosives

Pouvant, en contact avec des tissus vivants, exercer une action destructive de ces derniers

Ex. : ammoniac, soude, acides sulfuriques



N=Dangereuses pour l'environnement

Pouvant présenter un risque immédiat ou différé pour une ou plusieurs composantes de l'environnement

Ex. : aniline

o les phrases de risque R (R1 à R68) et les phrases de prudence S (S1 à S64) :

Nature des risques particuliers attribués aux substances et préparations dangereuses

- R.1 Explosif à l'état sec.
- R.2 Risque d'explosion par le choc, la friction, le feu ou d'autres sources d'ignition.
- R.3 Grand risque d'explosion par le choc, la friction, le feu ou d'autres sources d'ignition.
- R.4 Forme des composés métalliques explosifs très sensibles.
- R.5 Danger d'explosion sous l'action de la chaleur.
- R.6 Danger d'explosion en contact ou sans contact avec l'air.
- R.7 Peut provoquer un incendie.
- R.8 Favorise l'inflammation des matières combustibles.
- R.9 Peut exploser en mélange avec des matières combustibles.
- R.10 Inflammable.
- R.11 Facilement inflammable.
- R.12 Extrêmement inflammable.
- R.14 Réagit violemment au contact de l'eau.
- R.15 Au contact de l'eau, dégage des gaz extrêmement inflammables.
- R.16 Peut exploser en mélange avec des substances comburantes.
- R.17 Spontanément inflammable à l'air.
- R.18 Lors de l'utilisation, formation possible de mélange vapeur-air inflammable explosif.
- R.19 Peut former des peroxydes explosifs.
- R.20 Nocif par inhalation.
- R.21 Nocif par contact avec la peau.
- R.22 Nocif en cas d'ingestion.
- R.23 Toxique par inhalation.
- R.24 Toxique par contact avec la peau.
- R.25 Toxique en cas d'ingestion.
- R.26 Très toxique par inhalation.
- R.27 Très toxique par contact avec la peau.
- R.28 Très toxique en cas d'ingestion.
- R.29 Au contact de l'eau, dégage des gaz toxiques.
- R.30 Peut devenir facilement inflammable pendant l'utilisation.
- R.31 Au contact d'un acide, dégage un gaz toxique.
- R.32 Au contact d'un acide, dégage un gaz très toxique.
- R.33 Danger d'effets cumulatifs.
- R.34 Provoque des brûlures.
- R.35 Provoque de graves brûlures.
- R.36 Irritant pour les yeux.
- R.37 Irritant pour les voies respiratoires.
- R.38 Irritant pour la peau.
- R.39 Danger d'effets irréversibles très graves.
- R.40 Effet cancérogène suspecté. Preuves insuffisantes.
- R.41 Risque de lésions oculaires graves.
- R.42 Peut entraîner une sensibilisation par inhalation.
- R.43 Peut entraîner une sensibilisation par contact avec la peau.
- R.44 Risque d'explosion si chauffé en ambiance confinée.
- R.45 Peut provoquer le cancer.
- R.46 Peut provoquer des altérations génétiques héréditaires.
- R.48 Risque d'effets graves pour la santé en cas d'exposition prolongée.
- R.49 Peut provoquer le cancer par inhalation.
- R.50 Très toxique pour les organismes aquatiques.
- R.51 Toxique pour les organismes aquatiques.
- R.52 Nocif pour les organismes aquatiques.

Décodez

les symboles

Phrases R



- R.53 Peut entraîner des effets néfastes à long terme pour l'environnement aquatique
- R.54 Toxique pour la flore.
- R.55 Toxique pour la faune.
- R.56 Toxique pour les organismes du sol.
- R.57 Toxique pour les abeilles.
- R.58 Peut entraîner des effets néfastes à long terme pour l'environnement aquatique.
- R.59 Dangereux pour la couche d'ozone.
- R.60 Peut altérer la fertilité.
- R.61 Risque pendant la grossesse d'effets néfastes pour l'enfant.
- R.62 Risque possible d'altération de la fertilité.
- R.63 Risque possible pendant la grossesse d'effets néfastes pour l'enfant.
- R.64 Risque possible pour les bébés nourris au lait maternel.
- R.65 Nocif : peut provoquer une atteinte des poumons en cas d'ingestion
- R.66 L'exposition répétée peut provoquer dessèchement ou gerçures de la peau.
- R.67 L'inhalation de vapeurs peut provoquer somnolence et vertiges.
- R.68 Possibilité d'effets irréversibles.

Combinaison de phrases R

- R.14/15 Réagit violemment au contact de l'eau en dégageant des gaz extrêmement inflammables.
- R.15/29 Au contact de l'eau, dégage des gaz toxiques et extrêmement inflammables.
- R.20/21 Nocif par inhalation et par contact avec la peau.
- R.20/22 Nocif par inhalation et par ingestion.
- R.20/21/22 Nocif par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion.
- R.21/22 Nocif par contact avec la peau et par ingestion.
- R.23/24 Toxique par inhalation et par contact avec la peau.
- R.23/25 Toxique par inhalation et par ingestion.
- R.23/24/25 Toxique par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion.
- R.24/25 Toxique par contact avec la peau et par ingestion.
- R.26/27 Très toxique par inhalation et par contact avec la peau.
- R.26/28 Très toxique par inhalation et par ingestion.
- R.26/27/28 Très toxique par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion.

- R.27/28 Très toxique par contact avec la peau et par ingestion.
- R.36/37 Irritant pour les yeux et les voies respiratoires.
- R.36/38 Irritant pour les yeux et la peau.
- R.36/37/38 Irritant pour les yeux, les voies respiratoires et la peau.
- R.37/38 Irritant pour les voies respiratoires et la peau.
- R.39/23 Toxique : danger d'effets irréversibles très graves par inhalation.
- R.39/24 Toxique : danger d'effets irréversibles très graves par contact avec la peau.
- R.39/25 Toxique : danger d'effets irréversibles très graves par ingestion.
- R.39/23/24 Toxique : danger d'effets irréversibles très graves par inhalation et par contact avec la peau.
- R.39/23/25 Toxique : danger d'effets irréversibles très graves par inhalation et par ingestion.
- R.39/24/25 Toxique : danger d'effets irréversibles très graves par contact avec la peau et par ingestion.
- R.39/23/24/25 Toxique : danger d'effets irréversibles très graves par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion.
- R.39/26 Très toxique : danger d'effets irréversibles très graves par inhalation.
- R.39/27 Très toxique : danger d'effets irréversibles très graves par contact avec la peau.
- R.39/28 Très toxique : danger d'effets irréversibles très graves par ingestion.

- R.39/26/28 Très toxique : danger d'effets irréversibles très graves par inhalation et par ingestion.
- R.39/27/28 Très toxique : danger d'effets irréversibles très graves par contact avec la peau et par ingestion.
- R.39/26/27/28 Très toxique : danger d'effets irréversibles très graves par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion.
- R.42/43 Peut entraîner une sensibilisation par inhalation et contact avec la peau.
- R.48/20 Nocif : risque d'effets graves pour la santé en cas d'exposition prolongée par inhalation.
- R.48/21 Nocif : risque d'effets graves pour la santé en cas d'exposition prolongée par contact avec la peau.
- R.48/22 Nocif : risque d'effets graves pour la santé en cas d'exposition prolongée par ingestion.
- R.48/20/21 Nocif : risque d'effets graves pour la santé en cas d'exposition prolongée par inhalation et par contact avec la peau.
- R.48/20/22 Nocif : risque d'effets graves pour la santé en cas d'exposition prolongée par inhalation et par ingestion.
- R.48/21/22 Nocif : risque d'effets graves pour la santé en cas d'exposition prolongée par contact avec la peau et par ingestion.
- R.48/20/21/22 Nocif : risque d'effets graves pour la santé en cas d'exposition prolongée par inhalation, contact avec la peau et ingestion.
- R.48/23 Toxique : risque d'effets graves pour la santé en cas d'exposition prolongée par inhalation.
- R.48/24 Toxique : risque d'effets graves pour la santé en cas d'exposition prolongée par contact avec la peau.
- R.48/25 Toxique : risque d'effets graves pour la santé en cas d'exposition prolongée par ingestion.
- R.48/23/24 Toxique : risque d'effets graves pour la santé en cas d'exposition prolongée par inhalation et par contact avec la peau.
- R.48/23/25 Toxique : risque d'effets graves pour la santé en cas d'exposition prolongée par inhalation et par ingestion.
- R.48/24/25 Toxique : risque d'effets graves pour la santé en cas d'exposition prolongée par contact avec la peau et par ingestion.
- R.48/23/24/25 Toxique : risque d'effets graves pour la santé en cas d'exposition prolongée par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion.
- R.50/53 Très toxique pour les organismes aquatiques, peut entraîner des effets néfastes à long terme pour l'environnement aquatique.
- R.51/53 Toxique pour les organismes aquatiques, peut entraîner des effets néfastes à long terme pour l'environnement aquatique.
- R.52/53 Nocif pour les organismes aquatiques, peut entraîner des effets néfastes à long terme pour l'environnement aquatique.
- R.68/20 Nocif : possibilité d'effets irréversibles par inhalation.
- R.68/22 Nocif : possibilité d'effets irréversibles par ingestion.
- R.68/20/21 Nocif : possibilité d'effets irréversibles par inhalation et par contact avec la peau.
- R.68/20/22 Nocif : possibilité d'effets irréversibles par inhalation et par ingestion.
- R.68/21/22 Nocif : possibilité d'effets irréversibles par contact avec la peau et par ingestion.
- R.68/20/21/22 Nocif : possibilité d'effets irréversibles par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion.



Conseils de prudence concernant les substances et les préparations dangereuses

- S 1 Conserver sous clé.
- S 2 Conserver hors de la portée des enfants.
- S 3 Conserver dans un endroit frais.
- S 4 Conserver à l'écart de tout local d'habitation.
- S 5 Conserver sous... (liquide approprié à spécifier par le fabricant).
- S 6 Conserver sous... (gaz inerte à spécifier par le fabricant).
- S 7 Conserver le récipient bien fermé.
- S 8 Conserver le récipient à l'abri de l'humidité.
- S 9 Conserver le récipient dans un endroit bien ventilé.
- S 12 Ne pas fermer hermétiquement le récipient.
- S 13 Conserver à l'écart des aliments et boissons y compris ceux pour animaux.
- S 14 Conserver à l'écart des... (matière(s) incompatible(s) à indiquer par le fabricant).
- S 15 Conserver à l'écart de la chaleur.
- S 16 Conserver à l'écart de toute flamme ou source d'étincelles - Ne pas fumer.
- S 17 Tenir à l'écart des matières combustibles.
- S 18 Manipuler et ouvrir le récipient avec prudence.
- S 20 Ne pas manger et ne pas boire pendant l'utilisation.
- S 21 Ne pas fumer pendant l'utilisation.
- S 22 Ne pas respirer les poussières.
- S 23 Ne pas respirer les gaz/vapeurs/ fumées/aérosols (terme(s) approprié(s) à indiquer par le fabricant).
- S 24 Éviter le contact avec la peau.
- S 25 Éviter le contact avec les yeux.
- S 26 En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un spécialiste.
- S 27 Enlever immédiatement tout vêtement souillé ou éclaboussé.
- S 28 Après contact avec la peau, se laver immédiatement et abondamment avec... (produits appropriés à indiquer par le fabricant).
- S 29 Ne pas jeter les résidus à l'égout.
- S 30 Ne jamais verser de l'eau dans le produit.
- S 33 Éviter l'accumulation de charges électrostatiques.
- S 35 Ne se débarrasser de ce produit et de son récipient qu'en prenant toutes précautions d'usage.
- S 36 Porter un vêtement de protection approprié.

Décodez les symboles

Phrases S

- S 37 Porter des gants appropriés.
- S 38 En cas de ventilation insuffisante, porter un appareil respiratoire approprié.
- S 39 Porter un appareil de protection des yeux / du visage.
- S 40 Pour nettoyer le sol ou les objets souillés par ce produit, utiliser ... (à préciser par le fabricant).
- S 41 En cas d'incendie et/ou d'explosion ne pas respirer les fumées.
- S 42 Pendant les fumigations/pulvérisations porter un appareil respiratoire approprié (terme(s) approprié(s) à indiquer par le fabricant).
- S 43 En cas d'incendie utiliser... (moyens d'extinction à préciser par le fabricant. Si l'eau augmente les risques, ajouter "Ne jamais utiliser d'eau").
- S 45 En cas d'accident ou de malaise consulter immédiatement un médecin (si possible lui montrer l'étiquette).
- S 46 En cas d'ingestion consulter immédiatement un médecin et lui montrer l'emballage ou l'étiquette.
- S 47 Conserver à une température ne dépassant pas... °C (à préciser par le fabricant).
- S 48 Maintenir humide avec... (moyen approuvé à préciser par le fabricant).
- S 49 Conserver uniquement dans le récipient d'origine.
- S 50 Ne pas mélanger avec... (à spécifier par le fabricant).
- S 51 Utiliser seulement dans des zones bien ventilées.
- S 52 Ne pas utiliser sur de grandes surfaces dans les locaux habités.
- S 53 Éviter l'exposition, se procurer des instructions spéciales avant l'utilisation.
- S 56 Éliminer ce produit et son récipient dans un centre de collecte des déchets dangereux ou spéciaux.
- S 57 Utiliser un récipient approprié pour éviter toute contamination du milieu ambiant.
- S 59 Consulter le fabricant ou le fournisseur pour des informations relatives à la récupération ou au recyclage.
- S 60 Éliminer le produit et/ou son récipient comme un déchet dangereux.
- S 61 Éviter le rejet dans l'environnement. Consulter les instructions spéciales / la fiche de données de sécurité.
- S 62 En cas d'ingestion, ne pas faire vomir. Consulter immédiatement un médecin et lui montrer l'emballage ou l'étiquette.
- S 63 En cas d'accident par inhalation, transporter la victime hors de la zone contaminée et la garder au repos.
- S 64 En cas d'ingestion, rincer la bouche avec de l'eau (seulement si la personne est consciente).

Combinaisons de phrases S

- S 1/2 Conserver sous clé et hors de portée des enfants.
- S 3/7 Conserver le récipient bien fermé dans un endroit frais.
- S 3/9/14 Conserver dans un endroit frais et bien ventilé à l'écart des... (matières incompatibles à indiquer par le fabricant).
- S 3/9/14/49 Conserver uniquement dans le récipient d'origine dans un endroit frais et bien ventilé à l'écart de... (matières incompatibles à indiquer par le fabricant).
- S 3/9/49 Conserver uniquement dans le récipient d'origine dans un endroit frais et bien ventilé.
- S 3/14 Conserver dans un endroit frais à l'écart des... (matières incompatibles à indiquer par le fabricant).
- S 7/8 Conserver le récipient bien fermé et à l'abri de l'humidité.
- S 7/9 Conserver le récipient bien fermé et dans un endroit bien ventilé.
- S 7/47 Conserver le récipient bien fermé et à une température ne dépassant pas... °C (à préciser par le fabricant).
- S 20/21 Ne pas manger, ne pas boire et ne pas fumer pendant l'utilisation.
- S 24/25 Éviter le contact avec la peau et les yeux.
- S 27/28 Après contact avec la peau, enlever immédiatement tout vêtement souillé ou éclaboussé et se laver immédiatement et abondamment avec... (produits appropriés à indiquer par le fabricant).
- S 29/35 Ne pas jeter les résidus à l'égout ; ne se débarrasser de ce produit et de son récipient qu'en prenant toutes les précautions d'usage.
- S 29/56 Ne pas jeter les résidus à l'égout, éliminer ce produit et son récipient dans un centre de collecte des déchets dangereux ou spéciaux.
- S 36/37 Porter un vêtement de protection et des gants appropriés.
- S 36/37/39 Porter un vêtement de protection approprié, des gants et un appareil de protection des yeux / du visage.
- S 36/39 Porter un vêtement de protection approprié et un appareil de protection des yeux / du visage.
- S 37/39 Porter des gants appropriés et un appareil de protection des yeux du visage.
- S 47/49 Conserver uniquement dans le récipient d'origine à température ne dépassant pas... °C (à préciser par le fabricant).



Parmi les produits chimiques, certains sont classés comme étant cancérogènes et/ou mutagènes et/ou toxiques pour la reproduction (CMR). Des phrases de risque R particulières sont associées à chacune des 3 catégories de produits CMR

	Cancérogènes	Mutagènes	Reprotoxiques
	Catégorie 1 : R 45 R 49 <i>Ex. : amiante, benzène</i>	R 46 <i>Ex. acrylamide</i>	R 60 R 61 <i>Ex. : monoxyde de carbone</i>
	Catégorie 2 : R 45 R 49 <i>Ex. : acrylamide, styrène,</i>	R 46 <i>Ex. : acrylamide, oxyde d'éthylène</i>	R 60 R 61 <i>Ex. : diméthylformamide formamide, ethoxyethanol</i>
	Catégorie 3 : R 40 <i>Ex. : chloroforme, formaldéhyde</i>	R68 <i>Ex. : benzène, hydroquinone, trichloroéthylène, bromométhane</i>	R 62 R 63 <i>Ex. : acrylamide, hexane</i>

Les catégories, notées de 1 à 3, correspondent au degré de toxicité avéré ou supposé :

- o Catégorie 1 : substances que l'on sait être CMR pour l'homme.
- o Catégorie 2 : substances devant être assimilées à des substances CMR pour l'homme. Cette présomption est généralement fondée sur des études appropriées menées à long terme sur l'animal.
- o Catégorie 3 : substances préoccupantes pour l'homme en raison d'effets CMR possibles, mais pour lesquelles les informations issues d'études sur les animaux sont insuffisantes pour classer ces substances dans la deuxième catégorie.

L'étiquette, présente sur tout flacon, est donc une source importante d'informations concernant la sécurité. En cas de reconditionnement dans un nouveau flacon (aliquote par exemple), il est donc important de reporter sur celui-ci les informations suivantes : nom, date, concentration, et conditions de stockage. Avant d'introduire un nouveau produit chimique dans le laboratoire, informez-vous sur les risques liés à son utilisation.

La deuxième source d'informations sur un produit chimique est la fiche de données de sécurité. Elle reprend les informations de l'étiquette mais donne également des informations sur les effets du produit sur l'organisme (toxicité aiguë et/ou chronique) et la démarche à suivre en cas de contamination. Ces fiches peuvent être obtenues auprès des fournisseurs ou sur Internet.

b- La prévention du risque chimique

Elle passe par le respect des bonnes pratiques de laboratoire :

- o choisir le produit le moins dangereux et limiter les transvasements; ou s'assurer que l'affichage des règles de sécurité et des procédures d'urgence est bien à jour et connu des manipulateurs;
- o travailler dans un local convenablement ventilé;
- o ne pas fumer, boire, manger, se maquiller dans les lieux où l'on manipule;
- o ne jamais pipeter un liquide à la bouche;
- o ne jamais porter ses mains ou tout autre objet (stylo par exemple) à la bouche;
- o ne pas vouloir identifier un produit par son odeur;
- o ne pas tenter de faire des mélanges inconnus qui peuvent être incompatibles, surtout lors de la collecte des déchets;
- o travailler avec des appareillages et des moyens de protection en bon état;
- o stocker les produits dans des réfrigérateurs/congérateurs sécurisés.

Il faut également utiliser les moyens de protection individuels et collectifs :

- o la blouse en coton qui doit être fermée;
- o les lunettes et masques de protection;
- o les gants résistants aux produits manipulés (latex, nitrile ou vinyle);

Les produits chimiques doivent être entreposés dans des locaux aménagés à cet effet (ventilation, isolement, bacs de rétention...). Les déchets doivent être collectés par catégorie et entreposés dans des locaux adaptés avant d'être enlevés par une entreprise agréée.

2- Risques physiques

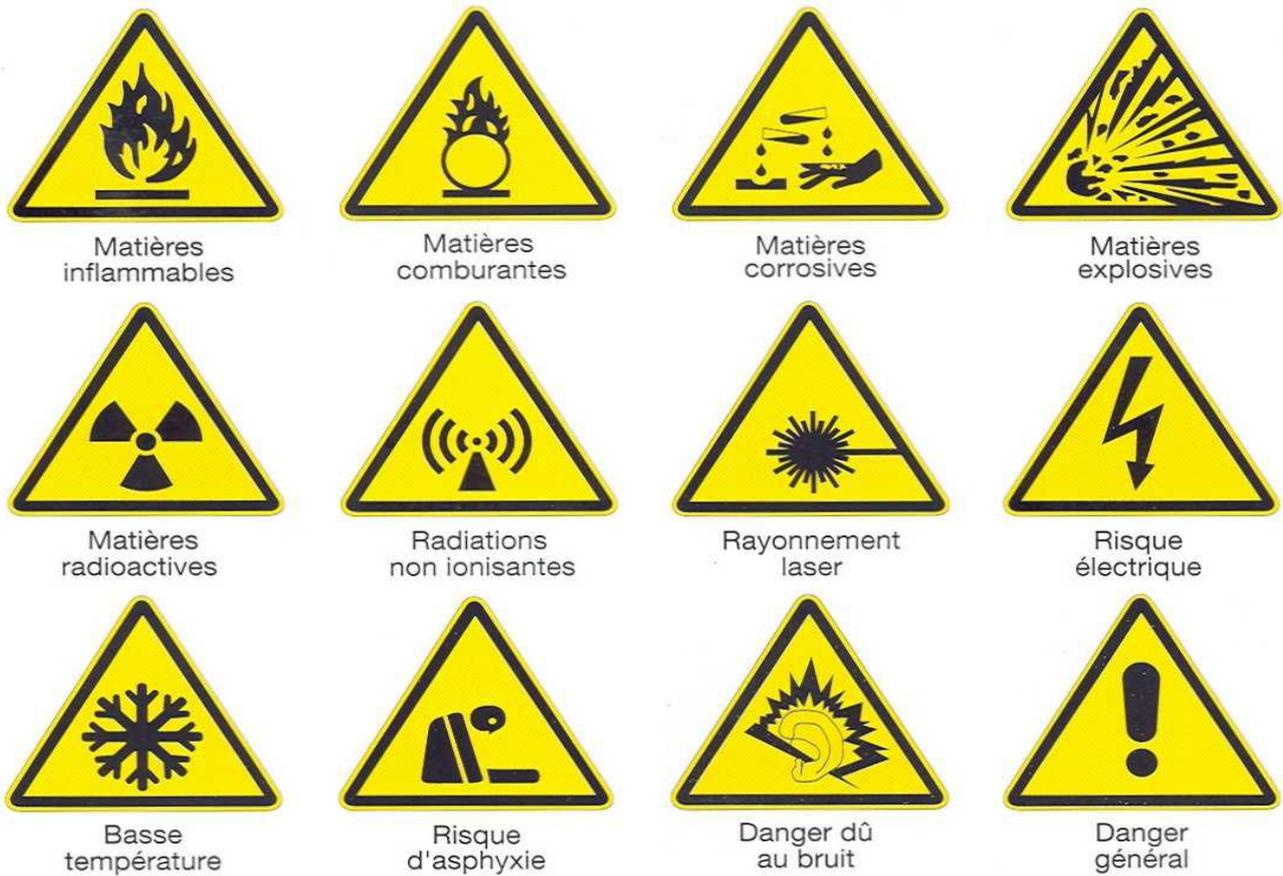
a- L'évaluation du risque physique

Dans ce document, les risques sont évalués par rapport aux dommages qu'ils peuvent causer aux personnes.

Les risques peuvent être de différentes natures :

- o asphyxie - sources : manipulation d'azote liquide dans un local mal ventilé, incendie;
- o électrocution - sources : incendie d'origine électrique, appareillage ou installation électrique mal entretenus, etc.;
- o brûlures - sources : incendie, électricité, bec benzène, rayonnements non ionisants (infrarouges, UV), rayonnement laser, autoclave, produits chimiques, basses températures (ex. : azote liquide), etc.;
- o altérations génétiques/cancer – sources : rayonnements ionisants (matières radioactives), rayonnements non ionisants (UV);
- o lésions divers (plaies, hémorragies, contusions, fractures, etc.) - sources : chute, chute d'objets, explosion (ex. : équipement sous pression tels que les autoclaves ou les bonbonnes de gaz, produits chimiques), bruit (ex. : sonicateur);
- o coupures et piqûres - sources : scalpels, aiguilles, pipettes Pasteur. Attention, des risques chimiques et biologiques peuvent y être souvent associés.

Différents pictogrammes de signalisation permettent d'identifier les causes potentielles de risque physique :



b- La prévention du risque physique

La variété des risques physiques étant importante, nous ne donnerons ici qu'une liste non exhaustive de recommandations :

- o apprenez à reconnaître les différents pictogrammes et respectez les consignes;
- o respectez les règles de stockage (ex. : produits inflammables dans armoire anti-feu et anti-déflagrante). N'entreposez pas inutilement des matières inflammables (ex. : carton);
- o la plupart du temps, les risques correspondent à des zones à accès réglementé. N'y pénétrez pas si vous n'avez rien à y faire ou si vous n'avez pas reçu une formation ou une information spécifique (ex : radioactivité);
- o utilisez les moyens de protection spécifiques mis à votre disposition (casque anti-bruit, lunettes et casque de protection, gants pour les hautes et basses températures, etc.);
- o respectez les consignes d'utilisation des appareillages;
- o ne démontez pas des appareillages en panne (faire appel à société de maintenance et réparation);
- o ne transportez pas manuellement des objets trop lourds ou encombrants.

3- Risques biologiques

a- L'évaluation du risque biologique

Les risques biologiques sont difficiles à évaluer compte tenu du fait que les animaux capturés sur le terrain sont potentiellement infectés par divers parasites (nématodes, virus, bactéries...) et qu'on ne connaît pas a priori les risques pour l'homme. Quoiqu'il en soit, il est impératif de respecter certaines règles préventives.

b- La prévention du risque biologique

- o les équipements de protection : Ils doivent être obligatoirement utilisés afin de limiter les risques de transmission de maladie des animaux à l'homme. Ils comprennent : la blouse, les gants, les lunettes de protection et le masque;
- o manipulation dans un local adapté, isolé du reste du laboratoire

En effet, il est préférable que les prélèvements soient réalisés à l'extérieur du laboratoire de biologie moléculaire. Les déchets contaminés doivent être jetés dans des poubelles adaptées : boîtes-tirelires pour les aiguilles et objets coupants, incinérateur pour les déchets biologiques.

II- Les règles de base de la sécurité dans un laboratoire de biologie

1- Stricte séparation des pièces à vivre et des laboratoires

Respectez l'interdiction de fumer, de manger, de boire dans les laboratoires, ou de stocker de la nourriture dans les réfrigérateurs et congélateurs de ces pièces.

Enlevez votre blouse et vos gants avant d'entrer dans un bureau ou d'aller à la cafétéria, en salle de réunion, au secrétariat, à la documentation. Enlevez vos gants pour répondre au téléphone, utiliser un clavier d'ordinateur, ouvrir les portes, etc.

Evitez également de vous passer les mains sur le visage si vous portez des gants, et ne mettez pas à la bouche les stylos qui vous servent dans le laboratoire.

2- Utilisez les moyens de protection individuels et collectifs mis à votre disposition : Ce sont les blouses, les gants, les lunettes et les casques de protection (anti-UV).

3- Apprenez à reconnaître les différents risques et respectez les consignes : Apprenez à identifier les différents risques à partir du balisage (étiquettes des produits, affiches etc.) et tenez en compte! Chacun doit rester vigilant et responsable vis-à-vis de l'utilisation des produits et appareillages.

4- Etiquetez !

Tout échantillon, produit, résultat de manipulation, déchet, etc., doit être correctement étiqueté. L'étiquette permet d'identifier le produit et d'éviter tout malentendu et toute erreur de manipulation, surtout si le flacon contenant le produit n'est pas celui d'origine.

Informations utiles devant figurer sur l'étiquette : nom du produits, nom de la personne l'ayant préparé, date d'ouverture ou de fabrication, condition de stockage, concentration.

5- Nettoyez et/ou décontaminez le poste de travail après chaque manipulation : Pensez aux personnes qui vont l'utiliser après vous! Les postes de travail doivent toujours être laissés propres et complets : lavage des paillasses à l'eau de javel, poubelles vides, jeux de pipettes complets, boites de cônes disponibles.

6- La gestion des produits dangereux : Ne stockez pas des solvants inflammables (ex. : alcool) dans les réfrigérateurs qui ne sont pas sécurisés. Les vapeurs pourraient s'enflammer en cas d'étincelle.

Ne jetez pas de produits chimiques dangereux dans les éviers, ni d'objets contaminés par ces produits (gants, papier, tubes etc.) dans les poubelles "normales". Il existe des poubelles spéciales pour les déchets liquides ou solides : phénol, chloroforme, BET, formamide, etc.

7- En cas d'incident ou d'accident...

En cas de projection de liquide dangereux, ou potentiellement dangereux (sang de rongeur par exemple) sur le corps ou dans l'oeil, lavez abondamment à l'eau pendant 15 minutes au minimum.

En cas d'ingestion de produit dangereux, ne faites pas vomir et ne donnez pas à boire à la personne. Renseignez vous sur la nature du produit, sa quantité, sa concentration, les circonstances de l'accident, les mélanges éventuels etc. de façon à pouvoir en informer le responsable hygiène et sécurité;

Dans tous les cas, informez immédiatement le responsable hygiène et sécurité, même si cela ne paraît pas grave sur le moment.

8- Informez et formez les nouveaux arrivants

Ne laissez jamais les nouveaux arrivants sans encadrement lors de leurs premières manipulations. Expliquez leur les règles de fonctionnement du laboratoire et formez les aux techniques en leur précisant toutes les règles de sécurité.

IV- Le soin apporté au matériel

Le matériel de laboratoire coûte cher, prenez en soin!

Si vous remarquez un dysfonctionnement du matériel ou que vous cassez quelque chose, signalez-le. Cela permet d'engager les réparations ou de changer le matériel en question au plus vite.

1- Les micropipettes automatiques

De nombreuses expérimentations dépendent de la justesse du pipetage. Un soin tout particulier doit donc leur être apporté.

Quelques conseils d'utilisation :

o Evitez de poser les pipettes automatiques à plat. Evitez les chocs (cause de dérèglement). Rangez les pipettes sur leur portoir entre chaque utilisation.

o Pour ne pas endommager le mécanisme interne de la micropipette, ne forcez jamais le réglage du volume au-delà des limites spécifiées par le fabricant (ne pas pipeter 210

Il avec une P200 par exemple, mais utiliser une P1000...).

Les plages d'utilisation des micropipettes sont les suivantes :

Modèle de pipette Plage d'utilisation

P2 0,1 – 2 μ l

P10 0,5 – 10 μ l

P20 2 – 20 μ l

P100 20 – 100 μ l

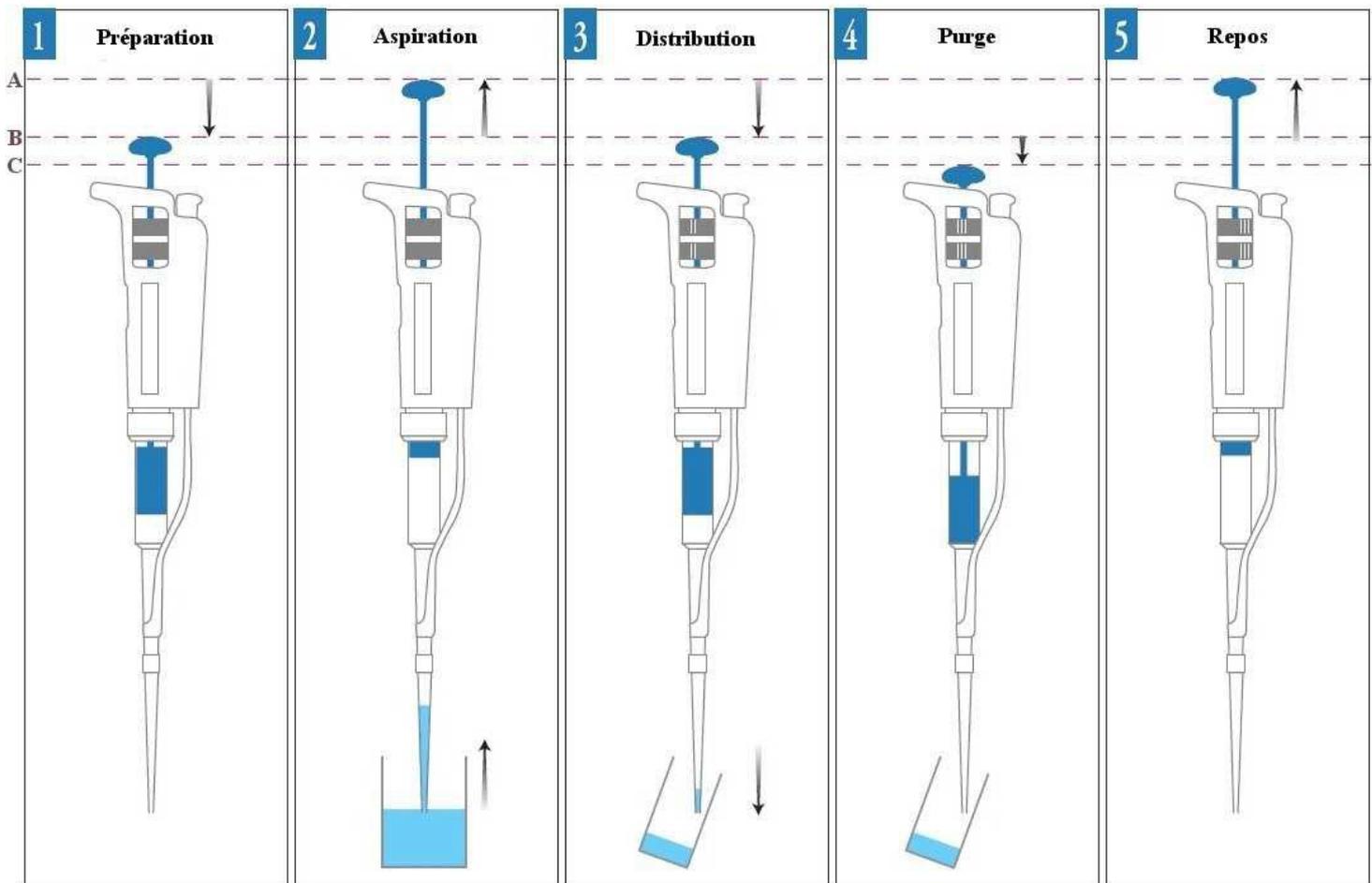
P200 30 – 200 μ l

P1000 200 – 1000 μ l

o Vérifiez que vous avez mis un cône au bout de la pipette avant de pipeter, cela vous évitera de tremper l'embout porte cône dans le liquide à pipeter (si, si c'est déjà arrivé!).

- o Pré-rincez le cône avant le pipetage. Cela permet une plus grande uniformité et répétabilité de la distribution. Ce pré-rinçage est réalisé en aspirant avec le cône et en redistribuant le liquide dans le récipient d'origine. Il faut le faire à chaque changement de cône et à chaque augmentation de volume.
- o Lors du prélèvement, n'appuyez pas le bout du cône sur le fond du tube.
- o N'utilisez pas les pipettes pour prélever des acides forts (HCl, H₂SO₄ etc.) car les vapeurs endommagent le piston (corrosion). Cela entraîne une perte de justesse du pipetage. Utilisez plutôt des pipettes jetables.
- o Nettoyez les pipettes régulièrement (extérieur et intérieur de l'embout porte-cône), changez les joints quand cela est nécessaire, re-calibrez les ou faites les re-calibrez une fois par an.
- o Respectez les techniques de pipetage en fonction de la nature du liquide :

Technique de pipetage direct pour les liquides peu visqueux et non moussants



1) Préparation : Maintenir la pipette automatique verticalement (augmente la justesse du pipetage), appuyer doucement sur le bouton-poussoir jusqu'à la première butée (position B).

2) Aspiration : Immerger le cône de 1 à 5 mm maximum dans le liquide à prélever (augmente la justesse du pipetage), relâcher lentement le bouton-poussoir sans à-coup jusqu'à la position de repos (position A) (cela permet d'éviter une remontée de liquide dans l'embout porte cône) et attendre 1 seconde de sorte que la totalité du liquide puisse remonter dans le cône. Retirer le cône du liquide et vérifier qu'aucune gouttelette ne reste accrochée à l'extérieur de la pointe, dans le cas contraire appuyer l'extrémité du cône sur la paroi du récipient (augmente la justesse du pipetage).

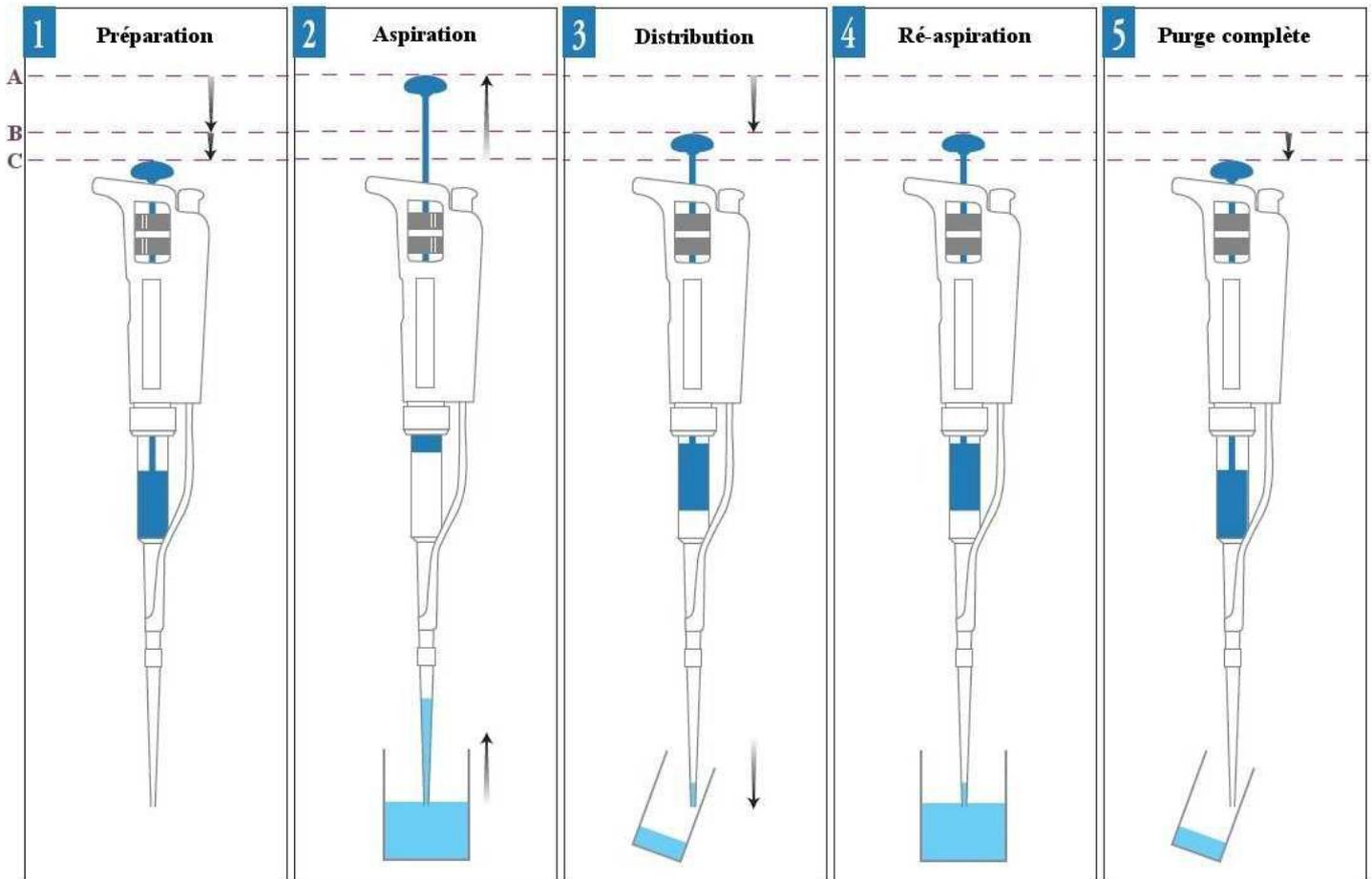
3) Distribution : Positionner la pointe du cône contre la paroi du récipient en inclinant légèrement la pipette automatique de 10 à 45° par rapport à la paroi du tube récepteur.

Appuyer doucement et sans à-coup sur le bouton-poussoir jusqu'à la première butée (position B).

4) Purge : Appuyer ensuite sur le bouton-poussoir jusqu'à la deuxième butée (position C) pour chasser le liquide résiduel du cône. Retirer la pipette automatique en faisant glisser l'extrémité du cône le long de la paroi du tube.

5) Repos : Retirer le cône du liquide puis relâcher le bouton-poussoir jusqu'à la position de repos (position A). Ejecter le cône.

Technique de pipetage inversé pour les liquides visqueux et/ou moussants (glycérol, triton, tween 20, etc.)



1) Préparation : Maintenir la pipette automatique verticalement (augmente la justesse du pipetage), appuyer doucement sur le bouton-poussoir jusqu'à la deuxième butée (position C).

2) Aspiration : Immerger le cône de 1 à 5 mm maximum dans le liquide à prélever (augmente la justesse du pipetage), relâcher lentement le bouton-poussoir sans à-coup jusqu'à la position de repos (position A) (cela permet d'éviter une remontée de liquide dans l'embout porte-cône) et attendre 1 seconde de sorte que la totalité du liquide puisse remonter dans le cône. Retirer le cône du liquide et vérifier qu'aucune gouttelette ne reste accrochée à l'extérieur de la pointe, dans le cas contraire appuyer l'extrémité du cône sur la paroi du récipient (augmente la justesse du pipetage).

3) Distribution : Positionner la pointe du cône contre la paroi du récipient en inclinant légèrement la pipette automatique de 10 à 45° par rapport à la paroi du tube récepteur.

Appuyer doucement et sans à-coup sur le bouton-poussoir jusqu'à la première butée (position B). Attendre 1 seconde.

4) Ré-aspiration : Si le cône doit être réutilisé pour une nouvelle aspiration du même liquide, maintenir le bouton-poussoir dans la même position intermédiaire (position B) et recommencer à partir de l'étape 2.

5) Purge complète : Si le cône ne doit pas être réutilisé, appuyer le bouton-poussoir jusqu'à la deuxième butée (position C) au dessus du récipient pour déchets. Ejecter le cône.

2- La balance

Comme les pipettes automatiques, elle ne doit pas être utilisée en dehors des limites spécifiées par le fabricant (problème de dérèglement donc de justesse de la pesée). Nettoyez la balance et la paillasse autour après utilisation.

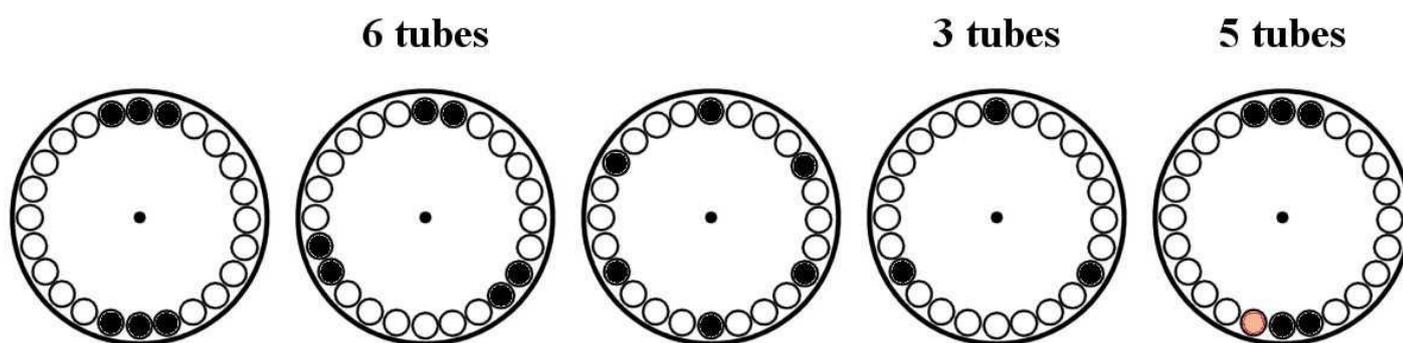
3- Le thermocycleur

Lors de la programmation, entrez une température de 10°C et non de 4°C en fin de programme, cela permet d'augmenter la durée de vie de la machine. De la même façon, il est préférable de ne pas démarrer une PCR le vendredi soir, pour éviter que le thermocycleur reste en marche tout le week-end. Faites les contrôler une fois par an par une société de maintenance.

4- La centrifugeuse

La partie la plus fragile d'une centrifugeuse est l'axe du rotor. Pour ne pas le fausser, il faut impérativement équilibrer le rotor, c'est-à-dire répartir les tubes de façon homogène de part et d'autre de l'axe central (en partant du principe que tous les tubes ont le même poids, sinon les peser et les associer deux à deux de même poids de part et d'autre de l'axe de rotation).

Quelques exemples pour un rotor 24 tubes :



Dans la dernière configuration (5 tubes), il faut en ajouter un sixième de même poids (en rouge sur le schéma).

Certaines centrifugeuses (de marque Eppendorf par exemple) possèdent un couvercle qui s'ajuste directement sur le rotor : n'oubliez pas de le mettre avant de démarrer la centrifugation.

Pensez également à laisser le couvercle des centrifugeuses ouvert quand elles sont éteintes pour éviter la condensation et l'apparition de moisissures (surtout les centrifugeuses réfrigérées).

5- Le bain-marie

Pensez à ajuster le niveau d'eau avant utilisation. Pensez à couvrir la cuve pour éviter l'évaporation (surtout pour les incubations sur la nuit) car certains bains-marie n'ont pas de système de sécurité et continuent à chauffer même sans eau. Ceci a été la cause de plusieurs incendies dans différents laboratoires. Changez l'eau de la cuve quand le besoin s'en fait sentir(eau trouble, dépôts sur le fond).

6- Les réfrigérateurs et congélateurs

Vérifiez que les réfrigérateurs et congélateurs sont bien refermés. Ne stockez pas inutilement et pensez à jeter ce qui n'est plus utile. Étiquetez de façon lisible ce que vous mettez dans les réfrigérateurs et congélateurs (nom, nom du projet ou de l'encadrant, date, contenu, etc.).

7- La table UV

Eteignez les tables UV après visualisation d'un gel d'agarose coloré au BET. Nettoyez la surface de la table UV avec de l'eau, surtout pas avec de l'alcool !

8- La cuve d'électrophorèse

Ne laissez pas les sels s'accumuler sur les électrodes de la cuve d'électrophorèse. Cela provoque un mauvais ajustement du couvercle qui empêche le contact de se faire, donc le courant électrique de passer et par conséquent la migration dans le gel ne se fait pas.

Un petit nettoyage de temps en temps ne leur fait pas de mal et permet de changer le tampon de migration (TBE). Dans le cas des cuves Mupid® le tampon de migration doit être utilisé à une concentration de 0,5x (une concentration supérieure en sels entraîne des dégagements de chaleur qui endommage ce type de cuve). Ne remplissez pas les cuves Mupid® au-delà de la marque interne, sinon des fuites se produisent par capillarité. Ne coulez pas les gels avec de l'agarose trop chaud, cela déforme les moules. Un bon repère est que vous pouvez couler les gels quand vous pouvez tenir la bouteille d'agarose chaud sans le gant de cuisine et sans vous brûler.

9- Le pHmètre

Le pHmètre doit être étalonné avant d'effectuer vos mesures. Pour ce faire, rincez préalablement l'électrode à l'aide d'une pissette d'eau osmosée puis utilisez les solutions commerciales d'étalonnage. Attention, il faut rincer l'électrode à l'eau osmosée entre chaque solution d'étalonnage, ainsi qu'avant et après vos mesures de pH. Une fois les mesures terminées, immergez l'électrode dans la solution de KCl 3M.

V- Les plannings de réservation

Des plannings de réservation existent pour certains postes. Vous devrez vous inscrire pour pouvoir les utiliser. Ne réservez pas plus que nécessaire et si vous avez du retard, pensez à prévenir la personne suivante sur le planning.

VI- Gestion des stocks et commandes de consommables

Etablissez une liste précise de tous les produits et consommables plastiques dont vous avez besoin. Assurez-vous que tous ces consommables sont disponibles en stock. N'attendez pas que le stock soit épuisé avant de commander, d'autant plus que les délais de livraison peuvent être parfois importants.

VII- Le ménage dans le laboratoire

A chaque fois que vous manipulez, pensez à :

- o vider les poubelles de pailleasse. Attention, les déchets dangereux doivent être jetés dans des poubelles spécifiques
- o ranger (pipettes, boîtes de pointes et pots de tubes, bacs en polystyrène etc.) et nettoyer les paillasses après vos manipulations;
- o faire votre vaisselle, ce n'est pas la peine qu'elle s'accumule dans les éviers; En dehors de ces recommandations quotidiennes, un tour de ménage peut être organisé régulièrement (une fois par mois par exemple). Ne stockez pas inutilement des encombrants (cartons, polystyrène...) dans le laboratoire.

Démarche qualité

La démarche qualité désigne un ensemble de règles et d'actions qui permettent d'assurer la fiabilité et la traçabilité des résultats expérimentaux

I- Fiabilité

La fiabilité (justesse) concerne les équipements d'expérimentation (micropipettes, balances, thermocycleur, pHmètre etc.) qui peuvent avoir une influence sur la qualité des résultats. La qualité des équipements conditionne en effet la qualité du résultat final.

Les sources d'erreurs peuvent provenir :

- du manipulateur (mauvaise utilisation de l'équipement);
- de l'équipement lui-même (dérèglement).

Il est donc essentiel d'utiliser correctement le matériel (en se référant aux consignes du fabricant par exemple), de former les utilisateurs et d'entretenir régulièrement l'équipement (nettoyage, étalonnage).

Quelques recommandations :

- mettez des notices explicatives (consignes d'utilisation) à disposition des utilisateurs pour chaque équipement;
- rédigez des protocoles qui seront utilisés par tous (homogénéisation des expérimentations);
- prévoyez des témoins négatifs et positifs lors des expérimentations, de façon à vérifier l'absence de contaminations par exemple. Cela vous permettra de valider vos résultats;
- de façon à s'assurer de la justesse des équipements, des tests peuvent être effectués à intervalles réguliers (à définir en fonction de l'équipement et de sa fréquence d'utilisation). Cela peut consister par exemple à effectuer une pesée sur une balance à l'aide d'un poids étalon, ou à prélever des volumes à l'aide d'une micropipette;
- faites contrôler les équipements une fois par an par une société spécialisée qui se chargera de les recalibrer.

II- Traçabilité

Le manipulateur doit assurer la traçabilité des données qu'il produit. Cela va de l'échantillonnage sur le terrain jusqu'à l'obtention des données moléculaires, en passant par tous les produits qu'il utilisera. L'un des principaux outils de traçabilité de l'expérimentateur est le cahier de laboratoire : il doit y consigner toutes les manipulations réalisées, avec la date, les conditions expérimentales ainsi que les résultats obtenus. Les expérimentations qui ne marchent pas doivent être également inscrites dans le cahier de laboratoire, ainsi que les paramètres qui seront modifiés par la suite. Le cahier de laboratoire sert à archiver les résultats, ce

qui permet de rapidement les retrouver De la même manière, toutes les modifications apportées à un protocole expérimental doit être écrites en prenant bien soin de conserver le protocole d'origine.

Quelques recommandations :

- remplissez votre cahier de laboratoire quotidiennement;
- étiquetez correctement et lisiblement tout ce que vous conservez en précisant votre nom, la date, le nom du produit ou de l'échantillon, sa concentration, sa date de péremption etc.;
- conservez vos produits ou échantillons dans un lieu adapté, en prenant soin de noter cet emplacement dans le cahier de laboratoire;
- gérez vos stocks (date d'entrée de nouveau produits, quantité, date d'utilisation etc.). Cela peut concerner aussi bien vos échantillons que les produits chimiques ou que les déchets toxiques;