

## Spécialité: 3<sup>ème</sup> année toxicologie

### Module: Hygiène et sécurité en milieu de travail

#### TD1. Règles d'hygiène et de sécurité face aux risques infectieux

##### 1. Classification

Les agents biologiques pouvant présenter un danger pour l'homme ont fait l'objet d'une classification dans un décret du 4 mai 1994.

**Classe 1 :** Agents non susceptibles de provoquer une maladie chez l'homme.

**Classe 2 :** Agents pathogènes à propagation peu probables, prophylaxie et traitement efficace, (*Escherichia coli*).

**Classe 3 :** Agents pathogènes sérieux pouvant se propager, prophylaxie et traitement efficace, (*Mycobacterium tuberculosis*).

**Classe 4 :** Agents provoquant des maladies graves, risque de propagation élevée sans prophylaxie ni traitement efficace, (Virus Ebola).

##### 2. Les voies de pénétration

###### A. Voie respiratoire-inhalation

L'inhalation d'aérosols infectieux, est loin le mode le plus fréquent de contamination au laboratoire, par exemple :

- Flambage d'une oese chargée de culture.
- Centrifugation
- Homogénéisation

La contamination peut se faire à distance de la source de l'agent pathogène par exemple :

- Conduits d'aération
- Climatisation, courants d'air

###### B. Voie transcutanée et cutanéomuqueuse

Chacun est exposé à ce risque par accident ou maladresse, il s'agit :

- De pique
- De coupure
- De projection (éclaboussure, aérosol, pulvérisation)

Toute lésion, même minime, de la peau est une porte d'entrée pour les agents infectieux. Certaines bactéries (*Leptospira*) traversent la peau saine.

###### C. Voie orale et digestive

Le risque est présent en cas :

- De mauvaise hygiène: objets contaminés portés à la bouche, aliments, mains souillées

- Du port incorrect des gants
- D'un pipetage oral

### **3. La prévention des risques infectieux**

#### **A. règles générales de base**

Elles consistent à

- Ne pas boire, manger, fumer, dans les salles de travail
- Porter une tenue de travail fermée lors des manipulations
- Eviter le port des vêtements civils sous la tenue
- Séparer dans les vestiaires les vêtements civils des vêtements de travail
- Posséder et utiliser une paire de chaussures réservées au laboratoire
- Attacher les cheveux longs
- Se laver les mains fréquemment et après chaque manipulation de produits chimiques et biologiques
- Se désinfecter les mains immédiatement après tout contact avec du sang ou produits biologique, les sécher avec un torchon papier jetable.
- Porter des gants pour toute manipulation à risque, les replacer à la moindre détérioration, les enlever pour :
  - Répondre au téléphone
  - Ecrire (stylo ou clavier d'ordinateur)
  - Ouvrir et fermer les portes ou tiroirs

#### **B. Recommandations**

Vous ne devez pas :

- Sortir du lieu de travail en tenue de travail
- Porter des survestes
- Porter des bijoux
- Vous maquiller au laboratoire
- Déposer des objets personnels sur les plans de travail
- Porter vos mains à la bouche ou aux yeux
- Ronger vos ongles
- Porter des crayons à la bouche

#### **C. Décontamination des surfaces et matériels**

La décontamination est essentielle pour la prévention. Elle doit être réalisée systématiquement après chaque manipulation

- Avant de désinfecter, il faut nettoyer et rincer
- Le décontaminant universel n'existe pas, par exemple l'alcool à 70° n'est pas actif sur les champignons
- Utiliser la dilution efficace du produit, exemple 1/10 ou 1/20 pour l'eau de Javel.
- Respecter un temps de contact adéquat par exemple 30 min pour les surfaces de travail avec l'eau de Javel ou l'alcool à 70°.

## 4. Les règles spécifiques

### Au moment du prélèvement

- Ne pas capuchonner les aiguilles
- Déposer immédiatement après usage les objets piquants ou tranchants dans des conteneurs adaptés
- Décontaminer les surfaces souillées avec de l'eau de javel 12° ou un spray désinfectant au moyen d'absorbant à usage unique



### Transport et réception des prélèvements

- Transporter les prélèvements dans des sacs plastiques étanches non réutilisables
- Les feuilles d'examens doivent être séparées des prélèvements
- Un sachet contenant un tube brisé doit être éliminé

### Au moment de l'analyse du prélèvement

- Travailler dans un endroit propre et non encombré
- Si le risque de projection existe, porter des lunettes et un masque
- Le risque maximum est à l'ouverture des tubes, dévisser le bouchon plutôt que le faire sauter.

### Interdiction de pipeter à la bouche

- Utiliser une poire, une propipette



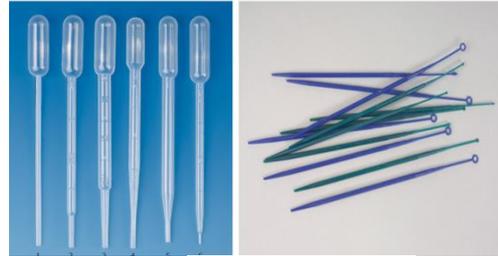
### A la centrifugation

- Ne remplir les tubes qu'au  $\frac{3}{4}$  et les fermer
- Ne jamais pencher la tête au dessus d'une centrifugeuse dès son arrêt

- Penser à désinfecter les cuves des centrifugeuses

### Au moment de l'ensemencement

- Ne pas utiliser de pipette pasteur mais du matériel plastique à usage unique
- Utiliser des anses en plastique à usage unique
- Travailler avec des oeses longues
- Eviter les gestes brusques, travailler sur des surfaces noires pour visualiser d'éventuelles projections
- Eliminer les déchets contaminés dans des conteneurs imperforables
- Décontaminer les surfaces souillées



### 5. Niveaux de confinement biologique

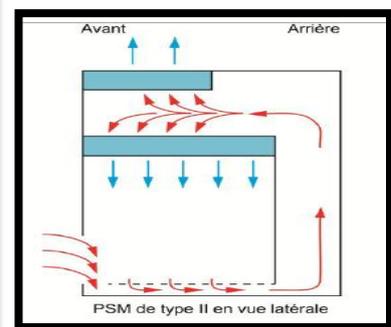
Les microorganismes doivent être manipulés selon un niveau de confinement biologique correspondant à leur classe de risque. On regroupe dans le niveau de confinement biologique, trois notions :

- Les caractéristiques du local d'expérimentation (présence d'un sas...)
- Le matériel utilisé (hotte ou poste de sécurité microbologique)
- Les bonnes pratiques de laboratoire

Les textes de loi prévoient 4 niveaux de confinement pour la manipulation des microorganismes

#### Niveau 1-2 :

- Laboratoire standard
- Manipulation de microorganismes de classe 1 et 2
- Manipulation de culture cellulaire ou de microorganisme sous des postes de sécurité microbologique à flux laminaire standard
- Laboratoire séparé des autres locaux au moins par une porte



### Niveau 3 :

- Laboratoire de confinement
- Manipulation de microorganismes de classe 3
- Fenêtres hermétiquement scellées
- Dépression dans la zone et air évacué à l'extérieur
- Pièce séparée par un sas
- Port de lunettes, de masque et de sur chaussures recommandé
- Signalisation « risque biologique » sur la porte



### Niveau 4 :

- Confinement haute sécurité
- Manipulation de microorganismes de classe 4
- Dépression stable, air sortant filtrer
- Autoclave à double entrée
- Signalisation « risque biologique » sur la porte

TD2. Règles d'hygiène de sécurité face au risque chimique

1. Toxicité

La toxicité d'un produit dépend de plusieurs facteurs

- Ses propriétés physico-chimiques
- La dose introduite dans l'organisme
- Les voies de pénétration dans l'organisme
- Le caractère cumulatif des doses absorbées
- Le type des cibles biologiques atteintes
- L'état de santé du sujet
- Les effets de synergie avec les autres produits chimiques, mais également médicaments, tabac, alcool, stress etc.

2. L'étiquetage

Connaissez les risques — lisez les étiquettes

Tous les produits doivent être repérés par des symboles et des indications de risques portés sur les étiquettes. Il est important de connaître leur signification exacte.

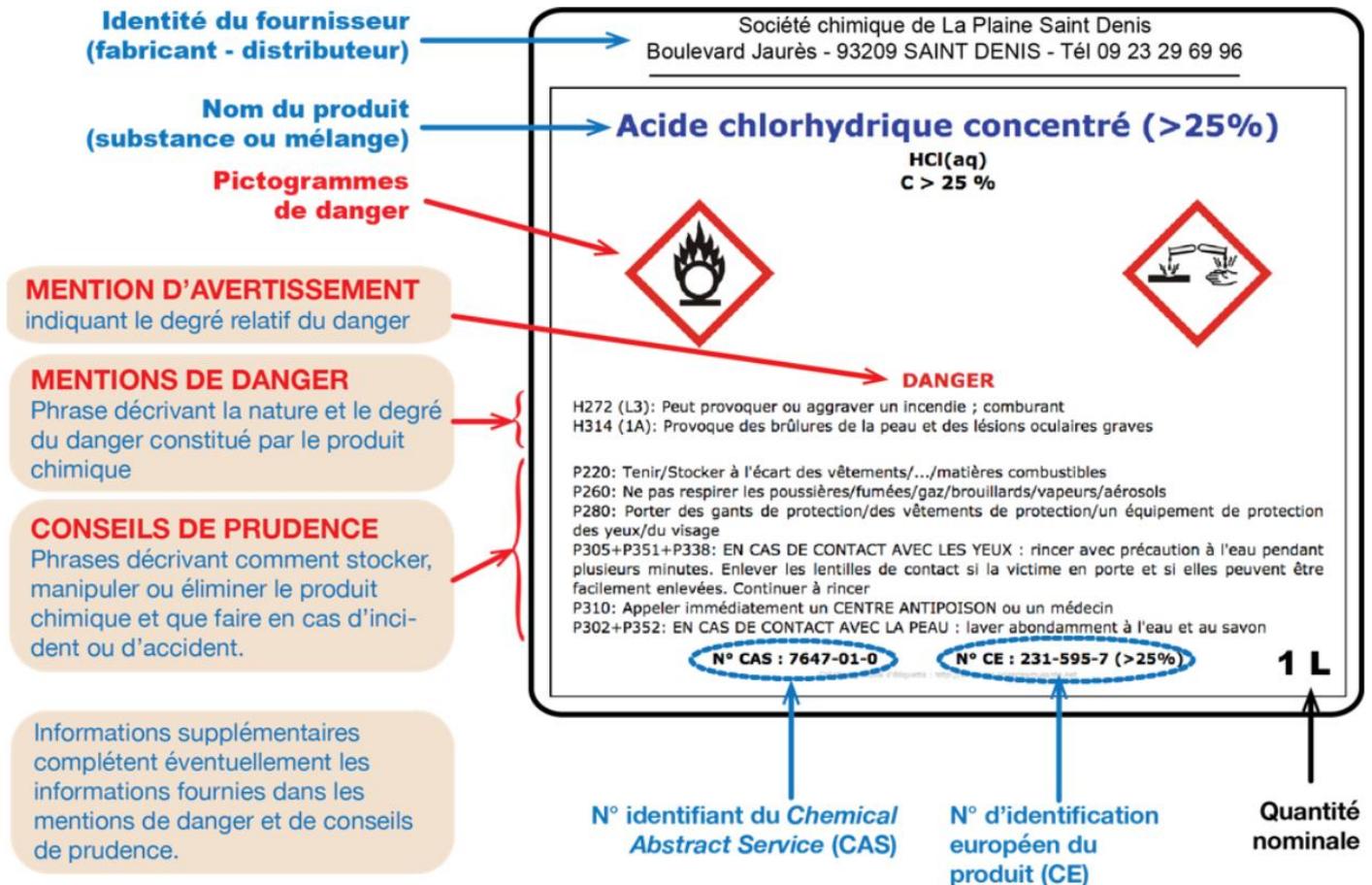
L'étiquetage et l'emballage des produits chimiques dangereux sont régis par des textes réglementaires. Outre les indications concernant la nature du contenu, la dénomination chimique, du ou des composants principaux, l'étiquetage doit comporter trois types d'information complémentaires :

- **Le ou les symboles de danger** avec leur signification, présentés par un pictogramme noir sur un fond blanc dans un cadre rouge

SGH 01 Ex : explosifs 	SGH 02 Ex : gaz inflammables 	SGH 03 Ex : gaz comburants 
SGH 04 Ex : gaz sous pression 	SGH 05 Ex : corrosion cutanée / métaux 	SGH 06 Ex : toxique, mortel 
SGH 07 Ex : irritant, nocif 	SGH 08 Ex : cancérigène 	SGH 09 Ex : dangereux pour le milieu aquatique 

- **Les phrases de risques (Phrase H)** indiquant en clair, la nature des risques particuliers attribués aux produits dangereux, numérotés de H 200 à H413 et EUH 01 à EUH 401.

- **Les conseils de prudence** à observer lors de la manipulation ou le stockage de ces produits, ou en cas d'accident, numérotés de P101 à P501.



### 3. la voie de pénétration

#### 3.1. Voie respiratoire-inhalation

Il s'agit du mode d'intoxication le plus fréquent. La toxicité sera fonction

- Des caractères physicochimiques du composé
- Une intoxication tabagique chronique ou une pathologie pulmonaire telle que l'asthme peuvent être des facteurs aggravants des intoxications par les poussières

La détection olfactive est un mauvais indicateur, certains produits sont inodores bien que toxiques, d'autres perçus à faible concentration ne le sont plus à forte concentration

#### 3.2. Voie transcutanée et cutanéomuqueuse

Ce mode de blessures est fréquent. Il existe un risque local et parfois systémique.

#### 3.3. Voie orale ou digestive

La voie de pénétration orale ne devrait plus être en cause en milieu professionnel car elle concerne surtout les accidents de pipetage qui néanmoins, lorsqu'ils se produisent, peuvent avoir de très graves conséquences.

### 3.4. Voie oculaire

Les conséquences des projections oculaires peuvent être très graves notamment avec les bases. En plus des réactions locales, il faut toujours penser à un possible effet général sur l'organisme.

## 4. Recommandations

### 4.1. Prévention du risque physico-chimique

Vous devez	Vous ne devez pas
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Lire les renseignements portés sur les étiquettes pour les produits dangereux (Phrase H et P)</li> <li>- Vérifier la date de préemption et écrire la date d'ouverture sur le flacon</li> <li>- Bien refermer les flacons après usage</li> <li>- Séparer les produits réagissant entre eux</li> <li>- Protéger les récipients lors de déplacements importants (escaliers, couloirs)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Utiliser un produit sans connaître ses caractéristiques</li> <li>- Laisser un flacon ouvert</li> <li>- Mélanger des produits dont vous ne connaissez pas les interactions</li> <li>- Transporter les récipients par le col ou le bouchon</li> <li>- Utiliser des récipients non adaptés</li> <li>- Omettre l'étiquetage des flacons</li> </ul>

### 4.2. Prévention du risque explosif

Vous devez	Vous ne devez pas
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Manipuler les substances explosives en quantité aussi faible que possible</li> <li>- Eviter les chocs et frottements</li> <li>- Utiliser des armoires à solvants ou pièce adaptée pour stocker les produits inflammables</li> <li>- Entreposer les produits loin de toute source de chaleur ou étincelle</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Manipuler des produits explosifs près d'une flamme</li> <li>- Stocker de grandes quantités de produits inflammables</li> </ul>

### 4.3. Prévention du risque toxique

Vous devez	Vous ne devez pas
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Utiliser des propipettes ou des pipettes automatiques</li> <li>- Manipuler les produits corrosifs avec des gants, les produits irritants sous hotte</li> <li>- Vous laver les mains après chaque manipulation</li> <li>- Stocker les toxiques et poisons sous clés</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Jeter les solvants et les produits cancérigènes dans l'évier</li> </ul>

## 5. Les fiches de données de sécurité (FDS)

Le fournisseur est tenu de transmettre la fiche de données de sécurité en même temps que la livraison du produit commandé. A chaque commande de nouveau produit, la fiche de données de sécurité dudit produit est rajoutée à l'ensemble des fiches afin de maintenir la liste à jour. Le contenu réglementaire de la fiche de sécurité est le suivant :

- Identification du produit chimique et de la personne responsable de sa mise sur le marché
- Informations sur les composants, notamment leur concentration ou leur gamme de concentrations, nécessaire à l'apparition des risques
- Identification des dangers
- Description des premiers secours à porter en cas d'urgences
- Mesures de lutte contre l'incendie
- Mesures à prendre en cas de dispersion accidentelle
- Précautions de stockage, d'emploi et de manipulation
- Procédures de contrôle de l'exposition des travailleurs et les caractéristiques des équipements de protection individuelle adéquats
- Propriétés physico-chimiques
- Stabilité du produit et sa réactivité
- Informations toxicologiques
- Informations éco-toxicologiques
- Information sur les possibilités d'élimination des déchets
- Informations relatives au transport
- Informations réglementaires relatives en particulier au classement et à l'étiquetage du produit
- Toutes autres informations disponibles pouvant contribuer à la sécurité ou à la santé des travailleurs

## Spécialité: 3<sup>ème</sup> année toxicologie

### Module: Hygiène et sécurité en milieu de travail

#### TD3. Mesures de prévention liées à la manipulation des produits dits CMR (cancérogènes, mutagènes, reprotoxiques)

##### 1. Généralités

Les produits génotoxiques sont susceptibles de:

- Provoquer l'apparition ou augmenter la fréquence de mutations (**produits mutagènes** de catégories 2 et 3 décrits par les phrases de risque H340 et 341)

**Exemple :** l'acrylamide, le BET, les agents alkylants (sulfate de diméthyle)

- Provoquer l'apparition ou augmenter la fréquence de cancers (**produits cancérogènes** de catégories 1, 2 et 3 décrits par les phrases de risque H350 et 351)

**Exemple :** le benzène

**Les produits toxiques pour la reproduction** ou **reprotoxiques** altèrent dans l'espèce humaine la fonction /capacité de reproduction ou le développement de l'embryon (H360-361)

**Exemple :** éther monoéthylique N- diméthylformamide

##### 2. Mode de contamination

Les substances génotoxiques peuvent pénétrer dans l'organisme par :

###### 2.1. La voie respiratoire

C'est la principale voie de pénétration des substances génotoxiques qui peuvent être facilement disséminées dans l'air sous forme de gaz, de vapeur, d'aérosols, de poussières...

###### 2.2. La voie cutanée

Plusieurs produits génotoxiques (amines aromatiques) pénètrent facilement à travers la peau saine.

**Attention :** divers solvants comme le diméthylsulfoxyde (DMSO) favorisent la pénétration des produits génotoxiques dans lesquels ils sont solubilisés. La contamination directe par blessure est peu fréquente, mais fait pénétrer directement le produit dans le sang.

###### 2.2. La voie orale

La contamination par voie digestive devrait être exceptionnelle car tout pipetage à la bouche est strictement interdit

##### 3. Mesures techniques

L'utilisation des produits à potentialité génotoxique doit obéir à des consignes rigoureuses qui devront être respectées tout au long du processus de leur mise en œuvre

###### 3.1. Approvisionnement des substances génotoxiques

L'approvisionnement en substances génotoxiques doit se faire dans la mesure du possible par petites unités

### **3.2. Inventaire et stockage**

Le cadre responsable des commandes doit tenir à jour un registre consignait les commandes de produits à potentialité génotoxiques (nom du produit, provenance, qualité, quantité, date de péremption, dates d'utilisation et nom de l'utilisateur)

Les produits génotoxiques seront stockés dans des lieux spécifiques, convenablement balisés avec le signe « danger cancérigène »

Les flacons de produits génotoxiques doivent être placés dans des récipients hermétiques ou dans des bacs de rétention soigneusement balisés

Régulièrement, le stock de produit sera recensé et l'état des flaconnages contrôlés par le cadre hygiène et sécurité.

### **3.3. Information et formation**

Les personnels ayant à manipuler des produits génotoxiques doivent obligatoirement suivre la formation interne « hygiène et sécurité »

### **3.4. Lieux de manipulation**

La pièce de biologie moléculaire est utilisée pour les mises en solution et dilution, les manipulations proprement dites, les stockages et les destructions des produits

La pièce a un accès contrôlé, afin d'éviter les déplacements superflus. La pièce ainsi que les meubles servant au stockage des produits génotoxiques portent la mention « danger cancérigène »

L'accès de ces pièces sera uniquement réservé aux personnes directement concernées.

A l'intérieur de ces pièces, un tableau précis de consignes à respecter scrupuleusement sera affiché en évidence (protection individuelle nettoyage après manipulation, conduite à tenir en cas d'exposition accidentelle ou de bris de flacon)

### **3.5. Protection individuelle**

Avant chaque expérience, le manipulateur devra s'équiper de vêtements et de matériels de protection individuelle adaptés au type de travail.

#### **Blouse :**

Le port d'une blouse en coton propre est obligatoire dans toutes les zones où les génotoxiques sont manipulés, elle est revêtue en entrant dans le lieu de manipulation, puis enlevée en sortant du local. Après une contamination évidente, les blouses sont immédiatement jetées pour incinération.

#### **Lunettes de protection :**

Comme pour la manipulation de tout produit, le port de lunettes de protection est obligatoire. Dans le cas de substance génotoxiques corrosives, l'utilisation d'un écran facial est recommandée

#### **Gants :**

Utiliser des gants nitrile (couleur bleue). En règle générale, il faut éviter de toucher avec les mains gantée, les poignées de porte, les robinets... il ne faut pas quitter le local de manipulation sans avoir au préalable enlevé et jeté les gants dans les sacs ou container à destruction, prévus à cet usage, et s'être soigneusement lavé les mains.

### **3.6. Manipulation proprement dite**

Les locaux et surfaces de travail où s'effectuent les manipulations de substances génotoxiques doivent être nettoyés par les utilisateurs après chaque usage. Toutes manipulations de produits pur ou de solution devra se faire sous une hotte chimique réservée et identifiée.

#### **En cas de bris ou renversement d'un flacon contenant un produit génotoxiques**

- A l'aide d'un papier absorbant humidifié, ramasser la poudre, ou le liquide ainsi que les débris
- Nettoyer la surface souillée à l'aide d'une solution détergente, puis rincer. Ne surtout pas utiliser l'eau de Javel, qui risque d'entraîner la formation de dérivés toxiques
- Jeter l'ensemble du matériel souillé et des débris dans un container spécifique et suivre le circuit des déchets chimiques.
- Rédiger un rapport de déclaration d'incident /accident du travail.

#### **En cas de contact avec un produit cytotoxique :**

- Lors de **projection sur les vêtements** : Oter immédiatement les vêtements souillés et les placer dans un container destiné à l'évacuation des déchets chimiques, si le liquides a traversé les vêtements, suivre le protocole adapté au cas de projection cutanée
- Lors d'un contact avec les gants : retirer immédiatement les gants puis se laver les mains à l'eau et au savon.
- Lors de projection cutanée : laver abondamment la surface contaminée à l'eau pendant 5 à 10 min, puis au savon puis rincer. Consulter le médecin du travail (puis dermatologue).
- Lors de projection oculaire : Rincer immédiatement et abondamment au sérum physiologique ou à l'eau pendant au moins 5 min, puis Consulter le médecin du travail (puis ophtalmologue).
- Lors de **coupure ou de pique** avec un objet piquant ou tranchant par un produit génotoxique : désinfecter et laver abondamment à l'eau et au savon, consulter le médecin du travail.

Toute contamination d'une personne ou encore d'une surface de travail doit être rapportée immédiatement au cadre du laboratoire ou aux correspondants hygiène et sécurité, et faire l'objet d'une déclaration d'incident/d'accident.