

Direction de l'Environnement
et de l'Aménagement Littoral

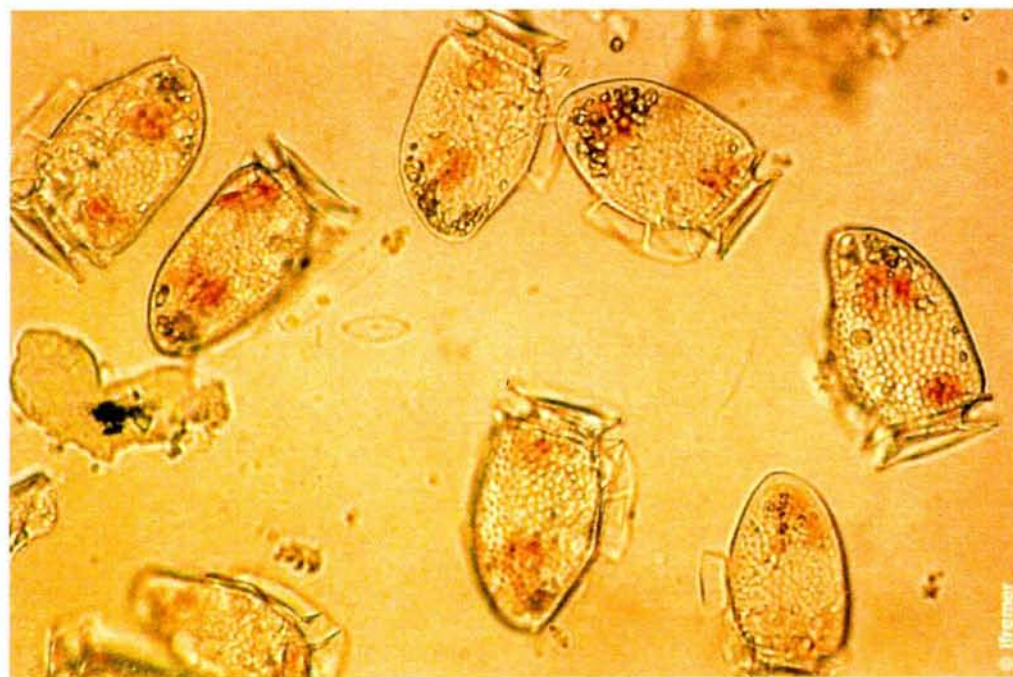
Isabelle BAUJARD

Juillet 2001 - RST.DEL/01.01/Cellule Assurance Qualité

ifremer

La culture d'algues toxiques

Evaluation des risques professionnels
et des déchets produits



Dinophysis – Baie de la Forêt (29) – Photo : E. NEZAN

Préalable

• Objectifs

Recensement d'informations auprès des acteurs : risques perçus et mesures préventives et/ou correctives proposées à chaque étape de leur activité.

• Activité et laboratoire concernés

- ⇒ le laboratoire DEL/MP-NP, Phycotoxines et Nuisances du département DEL/MP Microbiologie et Phycotoxines
- ⇒ séquences de travail étudiées : **la culture d'algues toxiques** à l'aide de 2 techniques, en ballons et en bio réacteurs (*hors cadre de mission : les phases ultérieures de contamination et décontamination des coquillages*)

Plan

- I- Le site, l'environnement extérieur du laboratoire
identification des zones sensibles (établissement, local de produits chimiques)
cadre réglementaire
- II- Les algues toxiques et le risque biologique
typologies et toxines associées
réglementation en vigueur : arme chimique et biologique, risque biologique
évaluation du risque biologique
- III- Les différents modes de culture (système)
présentation des modes opératoires des différentes étapes
- IV- Analyse des risques pour chaque étape (décomposition en sous-système)
présentation de la méthodologie (grille de cotation, sources de dangers)
fiche outil ou matrice (dangers, personnes exposées, évaluation et détermination de mesures)
- V- Analyse des déchets produits

La méthodologie d'analyse des risques proposée est caractérisée par une évaluation qualitative des séquences de travail. Elle pourra être ultérieurement complétée par des mesures quantitatives des niveaux enregistrés aux différents postes de travail par rapport aux seuils réglementaires ou seuils souhaitables.

L'évaluation des risques réalisée s'inscrit dans la continuité des travaux menés par les membres du CHSCT et s'intègre dans une approche globale de management de la qualité qui sera prochainement développée au sein du laboratoire DEL/PN.

L'implication des acteurs est primordiale pour initier une démarche cohérente, en adéquation avec leurs attentes et leurs préoccupations en terme de prévention des risques. Je tiens à remercier tous les membres du laboratoire DEL/PN pour leur aide, leur participation active et leur disponibilité ainsi que le Directeur du département DEL/MP.

Je tiens également à remercier la direction du Service Logistique et Technique et le Service des contrats pour leurs précieux renseignements.

Contexte réglementaire

La loi n° 91-1414 du 31 décembre 1991 (Article L230-2 du Code du travail) précise les obligations incombant à l'employeur ou au chef d'établissement :

- **identifier et évaluer les risques dans son entreprise,**
- **prendre les mesures nécessaires pour assurer la sécurité et protéger la santé des salariés (y compris celle des salariés temporaires) :** actions de prévention des risques professionnels, d'information, de formation, de mise en place d'une organisation et de moyens adaptés.

La mise en œuvre de ces mesures repose sur les principes généraux de prévention suivants :

- ⇒ éviter les risques,
- ⇒ évaluer les risques qui ne peuvent être évités,
- ⇒ combattre les risques à la source (exemple : localisation de la source du bruit d'une machine et prise de mesure),
- ⇒ adapter le travail à l'homme en ce qui concerne la conception des postes de travail et le choix des équipements de travail et des méthodes,
- ⇒ tenir compte de l'état de l'évolution de la technique,
- ⇒ remplacer ce qui est dangereux par ce qui n'est pas ou moins dangereux,
- ⇒ prendre des mesures de protection collective en leur donnant la priorité sur les mesures de protection individuelle,
- ⇒ transmettre des instructions appropriées aux salariés (consignes).

Le chef d'établissement demeure le premier responsable au regard de la loi (Article L230-4 du Code du travail) mais la responsabilité des membres de la hiérarchie voire celle du salarié peuvent être également engagées. Le salarié doit prendre soin de sa propre sécurité, de sa santé et de celles de son entourage professionnel (Article L230-3 du Code du travail). Chaque représentant de la hiérarchie, quel que soit son rang, assume une responsabilité de sécurité pour le secteur qui lui est confié, ce qui ne fait pas disparaître pour autant les responsabilités majeures de la direction. (Arr. 12 janvier 1996, Article 21).

Méthodologie proposée

1/ Identification des dangers :

entretiens approfondis (détermination et validation des modes opératoires des séquences de travail étudiées), observations (locaux, milieu, matériel, produits dangereux, protections collectives et individuelles, activités)

2/ Identification des personnes exposées aux dangers (en terme de fonction)

3/ Evaluation des risques (cotation) : décision collégiale (réunions de l'ensemble des acteurs)

4/ Propositions d'actions de prévention des risques identifiés selon leur cotation

I- LE SITE, L'ENVIRONNEMENT EXTERIEUR DU LABORATOIRE

Notre étude repose sur une approche systémique qui comprend au préalable une présentation du contexte dans lequel s'inscrit l'activité du laboratoire DEL/PN :

- identification des zones sensibles du Centre : stockage de produits dangereux, présence sur le site d'un bâtiment classé ERP, Etablissement Receveur de Public,
- rappel des obligations réglementaires et préconisations d'actions à mettre en œuvre.

Thème	Références réglementaires	Obligations
<p>Typologie d'établissement</p> <p>Stockage de substances et préparations dangereuses</p>	<p>Selon le type de nuisances ou de dangers qu'elles produisent, les installations peuvent être soumises à 3 régimes différents :</p> <ul style="list-style-type: none"> - les installations de taille importante où les risques sont élevés : soumises à autorisation, - les installations de moindre taille, où les risques sont moins élevés : soumises à déclaration, - les autres installations : application des obligations générales ou découlant du RSD, Règlement Sanitaire Départemental et des dispositions préfectorales, locales. <p>ICPE : Installations Classées pour la Protection de l'Environnement <i>Le décret d'application N°77-1133 du 21 septembre 1977 de la loi N° 76-663 du 19 juillet 1976 réglemente les conditions d'ouverture, d'exploitation et de fermeture des installations susceptibles de provoquer des nuisances.</i></p> <p><i>La liste des installations classées pouvant être concernées par cette loi est contenue dans la Nomenclature des ICPE du 20 mai 1953 (révisée totalement en 1996).</i></p> <p>Nous citerons à titre d'exemples : l'emploi ou le stockage de substances et préparations toxiques telles que définies à l'article R.231-51 du Code du Travail, cf. partie IV page 30 :</p> <ul style="list-style-type: none"> - rubrique 1111 : Substances très toxiques dont la quantité totale susceptible d'être présente dans l'installation est supérieure ou égale aux seuils cités ci-après sont soumises à déclaration : <ol style="list-style-type: none"> 1. solides dont la quantité totale ≥ 200 kg mais < 1 t 2. liquides dont la quantité totale ≥ 50 kg mais < 250 kg 3. gaz ou gaz liquéfiés dont la quantité totale ≥ 10 kg mais < 50 kg - rubrique 1131 : Substances Toxiques, à l'exclusion des substances et préparations visées explicitement ou par famille par d'autres rubriques de la nomenclature ainsi que du méthanol, sont soumises à déclaration Gaz ou gaz liquéfiés dont la quantité totale est ≥ 200 kg mais < 2 t. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ L'absence de déclaration d'une installation classée constitue une faute pénale. <p>Historique du Centre Le 21 décembre 1998 s'est produit un incident dans le local de produits chimiques suite à un transvasement de substances dangereuses. Cet événement a nécessité l'intervention de la Cellule Opérationnelle de Prévention des Risques, la COPR et a donné lieu à la rédaction d'un rapport dont nous avons sollicité l'obtention d'une copie avec l'accord de la Direction du Centre, dans le cadre de notre étude.</p> <p>Ce rapport ne mentionne pas de réserves sur la configuration des locaux et les conditions de stockage. En effet la direction de la COPR considère que les agents de l'Ifremer sont des professionnels avertis des risques encourus.¹</p> <p>Préconisations générales</p> <p>1- s'assurer que les quantités stockées sont inférieures aux seuils réglementaires des installations classées avec un recensement global des produits par catégorie entreposée dans chaque laboratoire et dans le local de produits chimiques. A titre d'exemple, une évaluation effectuée par la COPR, à la demande du Président de la Faculté des Sciences, a révélé que cet établissement est soumis à la réglementation des ICPE. ⇒ possibilité de commanditer une étude de sécurité des produits chimiques stockés auprès de la COPR, prestation gratuite.</p> <p>2- si les quantités stockées sont inférieures aux seuils réglementaires, le Centre devrait suivre les recommandations de stockage de l'INRS.</p>

¹ Entretien avec le Directeur de la COPR, rapport présenté en annexe

	<p>Si les quantités stockées sont inférieures aux seuils réglementaires : application des dispositions du Code du Travail et des préconisations de l'INRS, Institut National de Recherche et de Sécurité :</p> <ul style="list-style-type: none"> - respect des règles de séparation des produits incompatibles <i>cf. page 31</i> <i>A- Etude globale et réglementaire : produits dangereux</i> - isolement du local des bâtiments scientifique et administratif (dizaine de mètres) : limitation des risques de propagation en cas d'accident (incendie...), accès facilité en cas d'intervention des secours - en cas d'impossibilité d'isolement : proscrire un emplacement en sous-sol de bâtiment, séparation du local avec une paroi de degré coupe-feu 2 heures, porte de degré coupe-feu ½ heure comprenant une barre anti panique manœuvrable depuis l'intérieur - installation de bacs de rétention sur chaque étagère entreposant des produits classés par catégories - local ventilé (ventilation mécanique souhaitable) et présentant un sol de rétention - mesures de prévention : poste téléphonique (nécessaire en cas d'alerte), mise à disposition d'un appareil de respiratoire autonome à l'entrée du local (vérifié et entretenu régulièrement), présence d'une douche de sécurité et d'un lave œil à proximité du local 	<p>Principales préconisations spécifiques au local de stockage</p> <p>Dans un local spécifique (S 923, 925,927), situé au sous sol du bâtiment scientifique, sont stockés les produits neufs et les produits usagers de trois types : solvants, bases, acides. Chaque laboratoire gère son stock de produits entreposés sur des étagères qui sont identifiées par son « code interne » (exemple : DEL/PN).</p> <ul style="list-style-type: none"> ⇒ diminuer le temps de séjour dans le local avec un affichage du plan du local (ordre de classement des produits) ⇒ vérifier les propriétés antidéflagration de la porte, des capacités de rétention du sol (NC, non-conformités potentielles) ⇒ afficher les sigles de danger ⇒ replacer sur la porte d'entrée un masque respiratoire à cartouches ⇒ installer des bacs de rétention par catégorie de produits ⇒ veiller à la séparation des produits incompatibles ⇒ construction d'un local extérieur souhaitable ou déplacement du local en rez de chaussée pour garantir la sécurité du personnel du Centre, la sécurité des personnes extérieures de passage au Centre, la sécurité voisinage (le centre étant situé dans une zone d'établissements receveurs de public scolaire) ⇒ limiter son accès aux personnes formées aux risques chimiques ⇒ remarque : procéder à l'élimination des cartons entreposés, en raison de la présence de produits inflammables
<p>Etablissement Receveur de Public (ERP)</p>	<p>Etablissement soumis aux dispositions du Code de la Construction et de l'habitation <i>Art. R. 123-3 (Décret N°78-1296 du 21 déc. 1978)-</i> Les constructeurs, propriétaires et exploitants des établissements recevant du public sont tenus, tant au moment de la construction qu'au cours de l'exploitation, de respecter les mesures de prévention et de sauvegarde propres à assurer la sécurité des personnes ; ces mesures sont déterminées compte tenu de la nature de l'exploitation, des dimensions des locaux, du mode de construction et du nombre de personnes pouvant être admis dans l'établissement, y compris les personnes handicapées.</p> <p>Contrôle de la conformité réglementaire : Commission communale de Sécurité</p> <ul style="list-style-type: none"> • Emission d'avis sur la poursuite de l'exploitation de l'établissement • Classement de l'établissement suivant le type de locaux (affectation) et la capacité d'accueil (catégorie) : 	<p><i>Remarque : inspection uniquement de la salle de conférence par la Commission, le reste du bâtiment étant considéré comme un bâtiment administratif</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Obligations de protection contre les risques d'incendie et de panique dans les immeubles recevant du public : vérification de la conformité normative des installations électriques, de chauffage et de gaz, du système de sécurité incendie (alarme, installations de désenfumage, extincteurs), blocs lumineux de sécurité ; exercices incendie et affichage des consignes de sécurité, affichage de plan d'orientation dans l'établissement ; tenue d'un Registre de Sécurité² • Obligations d'affichage : <i>Arrêté du 25 juin 1980</i> Affichage près de l'entrée principale d'un « avis » relatif au contrôle de la sécurité, rempli par l'exploitant, réalisé suivant le modèle ci-après et devant être validé par l'autorité ayant délivré l'autorisation d'ouverture.

² Pour plus de détails Cf. dernier rapport de la Commission Communale de Sécurité, visite du 9 février 1998

	<p>⇒ classement du Centre³ :</p> <ul style="list-style-type: none"> - type : W (locaux administratifs) et L (salle de réunion) - catégorie : 4 (100 et 300 personnes) <i>Art. * R. 123-19</i> <p>⇒ historique des visites :</p> <ul style="list-style-type: none"> - 1^{er} visite : 25 mai 1976 sur l'initiative du Directeur de l'établissement - périodicité pour la 4^{ème} catégorie selon l'<i>Arrêté du 7 juillet 1997</i> : tous les 5 ans (prochaine visite en février 2003)⁴ <ul style="list-style-type: none"> • Réglementation applicable : dispositions de l'<i>Arrêté du 25 juin 1980</i> 	<p>Notons qu'il apparaît qu'il n'existe pas d'arrêté d'ouverture du Centre. Cette information a été validée par les services administratifs internes et confirmée par le secrétariat de la Commission (absence de réalisation systématique à la date de création du bâtiment).</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 10px; margin: 10px auto; width: 80%;"> <p style="text-align: center;">SECURITE INCENDIE</p> <p><i>Conformément aux dispositions des articles R.123-18 et R.123-19, R.123-45 et R.123-46 du Code de la Construction et de l'habitation, notre établissement répond aux caractéristiques suivantes :</i></p> <p>Type Catégorie.....</p> <p>Effectif maximal du public autorisé :</p> <p>Date de la visite de réception par la Commission de sécurité</p> <p>Date de l'autorisation d'ouverture :</p> <p>Vu,</p> <p><i>L'autorité ayant délivré l'autorisation d'ouverture,</i></p> <p style="text-align: right;"><i>Le Chef d'établissement</i></p> </div>
<p><u>Interventions d'entreprises extérieures</u></p>	<p>Obligation de prévenir les risques liés à l'interférence entre les activités, les installations et matériels des différentes entreprises présentes sur un même lieu de travail</p> <p><i>Décret N° 92-158 du 20 Février 1992</i></p> <p>complétant le code du travail et fixant les prescriptions particulières d'hygiène et de sécurité applicables aux travaux effectués dans un établissement par une entreprise extérieure.</p> <p>Responsabilité d'initier une démarche de définition des risques et des mesures de prévention à adopter par le chef de l'entreprise utilisatrice, et d'assurer la coordination générale de ces mesures et de celles prises par les chefs d'entreprises intervenant dans son établissement.</p>	<p>Article R237-8</p> <p>Obligation de rédaction d'un plan de prévention établi par écrit avant le commencement des travaux dans les 2 cas suivants :</p> <ul style="list-style-type: none"> - dès lors que l'opération à effectuer par la ou les entreprises extérieures, y compris les entreprises sous-traitantes auxquelles celles-ci peuvent faire appel, représente un nombre total d'heures de travail prévisible égal au moins à 400 heures de travail sur une période égale au plus à 12 mois, que les travaux soient continus ou discontinus, - quelle que soit la durée prévisible de l'opération, lorsque celle ci comporte des travaux dangereux figurant sur une liste fixée, par <i>arrêté du 19 mars 1993</i>. <p>Article R237-7</p> <p>Methodologie</p> <ol style="list-style-type: none"> 1- Analyse des risques 2- Détermination des mesures du plan de prévention devant comporter au moins des dispositions dans les domaines suivants : <ul style="list-style-type: none"> - une définition des phases d'activité dangereuses et des moyens de prévention spécifiques correspondants, - l'adaptation des matériels, installations et dispositifs à la nature des opérations à effectuer ainsi que la définition de leurs conditions d'entretien,

³ Source : Responsable du suivi du dossier du Centre, Secrétariat Général Mission Environnement Risques, Mairie de Nantes

⁴ Idem

<p>Exemples d'entreprises extérieures concernées :</p> <ul style="list-style-type: none"> - entreprises du bâtiment - entreprises de nettoyage - entreprises d'espaces verts - entreprises de contrôles techniques ... 	<ul style="list-style-type: none"> - les instructions à donner aux salariés, - l'organisation mise en place pour assurer les premiers secours en cas d'urgence et la description du dispositif mis en place à cet effet par l'entreprise utilisatrice, - les conditions de la participation des salariés d'une entreprise aux travaux réalisés par une autre en vue d'assurer la coordination nécessaire au maintien de la sécurité et, notamment, de l'organisation du commandement. <p>Situation du Centre Conformité réglementaire : existence de plans de prévention pour les entreprises extérieures⁵ : nettoyage (en cours de rédaction depuis le changement d'entreprise au 1^{er} janvier 2001), gardiennage, service de restauration</p> <p>Préconisations Les plans cités précédemment datent de 1996. La législation stipule qu'ils sont prévus pour la durée des travaux, avec une information écrite de la déclaration des travaux d'ouverture auprès de l'inspecteur du travail par l'entreprise utilisatrice donc le Centre, <i>Article R237-9 du Code du travail</i>. Il est nécessaire de les réviser annuellement.</p> <p><i>Remarque : une copie des documents pourrait être transmise au Responsable du Service des Contrats.</i></p>
<p>Cas particulier des entreprises de transport Arrêté 26 avril 1996 : règles de sécurité applicables aux opérations de chargement et de déchargement effectuées par une entreprise extérieure</p> <p>Exemple d'entreprise : collecteur de déchets</p>	<p>Art. 2. Obligation de définir au préalable un protocole de sécurité remplaçant le plan de prévention prévu aux articles <i>R. 237-7 et suivants</i>.</p> <p>Art. 5 : dans certains cas il semble difficile d'identifier à l'avance le transporteur (préconisation : affichage et information à l'entrée du Centre du plan et des consignes de circulation, des consignes de sécurité élémentaires ex : interdiction d'utiliser les chariots élévateurs...)</p> <p>Art. 4. : Lorsque les opérations de chargement et de déchargement, impliquant les mêmes entreprises, revêtent un caractère répétitif : établissement préalablement à la première opération, d'un seul protocole de sécurité</p> <p>Préconisations Réalisation d'un protocole de sécurité avec la société d'enlèvement des produits chimiques cf. V. page 50 sur la base du modèle du plan de prévention utilisé au niveau du Centre pour les entreprises extérieures</p>

⁵ Source : Chef du Service Logistique et Technique

<p><u>Formations réglementaires</u></p> <p>en Hygiène, Sécurité et Conditions de travail</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Formation à la sécurité des salariés de l'entreprise <i>Décret du 20 mars 1979</i> <p>⇒ Salariés concernés intérimaires, CDD, CDI à l'entrée dans l'entreprise, salariés ayant changé de poste, salariés exposés à de nouveaux risques, salariés ayant vécu un changement de techniques, de matériel ou une transformation des locaux, et à la demande du médecin du travail, les salariés reprenant leur travail après un arrêt de travail de plus de 21 jours</p>	<p>Art L 231-3-1 du Code du Travail Tout chef d'établissement est tenu d'organiser une formation pratique et appropriée en matière de sécurité, au bénéfice des travailleurs qu'il emploie. <u>Contenu</u> : conditions de circulation sur les lieux du travail ; conduite à tenir en cas d'accident, de sinistre ; conditions d'exécution du travail (comportements sécuritaires, dispositifs de protection, dispositifs de secours, consignes de sécurité, les Equipements de Protection Individuelle)</p> <p>Préconisations : à développer</p>
	<ul style="list-style-type: none"> • Formation à l'utilisation des équipements de travail et de protection individuelle <p>⇒ Salariés chargés de la mise en œuvre et de la maintenance des équipements de travail <i>Art R233-3, R. 233-10 du Code du Travail</i></p> <p>⇒ Tout salarié utilisant un équipement de protection individuelle, EPI, <i>R. 233-44</i></p>	<p>Article R233-1 du Code du Travail Le chef d'établissement doit mettre à la disposition des travailleurs les équipements de travail nécessaires, appropriés au travail à réaliser ou convenablement adaptés à cet effet, en vue de préserver la santé et la sécurité des travailleurs, et en tant que de besoin, les équipements de protection individuelle appropriés. <u>Contenu</u> :</p> <ul style="list-style-type: none"> - équipements de travail : prescriptions à respecter, conditions d'exécution des travaux, matériels et outillages à utiliser - pour les équipements de protection individuelle : le(s) risque(s) existant(s) contre le(s)quel(s) ils protègent les salariés, présentation de l'EPI, entraînement au port de l'EPI (exemple : appareil respiratoire autonome) <p>Préconisations : à prévoir en complément de la mise en œuvre des mesures préconisées partie IV, 4.2.</p>
	<ul style="list-style-type: none"> • Formation des salariés exposés à l'utilisation de produits chimiques <i>Art R231-54-5</i> <p>⇒ Tout salarié utilisant des produits chimiques</p>	<p><u>Contenu</u> : reconnaissance des symboles de danger, lecture des étiquettes et des fiches de produits dangereux, utilisation des EPI, conduite à tenir en cas de blessure et en cas d'incident</p> <p><i>Remarque :</i> Art R231-54-5 L'employeur est tenu d'établir une notice pour chaque poste de travail exposant les travailleurs à des substances ou préparations chimiques dangereuses les informant des risques encourus et dispositions prises pour les éviter.</p> <p>Préconisations : à généraliser à tous les salariés concernés</p>
	<ul style="list-style-type: none"> • Formation des salariés exposés au risque biologique <i>Art R.231-63 du Code du Travail</i> <p>⇒ Tout salarié exerçant une activité impliquant un contact avec des agents biologiques, <i>cf. définition partie II, page 13</i></p>	<p><u>Contenu</u> : risques pour la santé et prescriptions en matière d'hygiène, précautions à prendre pour éviter l'exposition, port et utilisation des équipements et des vêtements de protection individuelle, modalités de tri, de collecte, de stockage, de transport et d'élimination des déchets, mesures à prendre pour prévenir ou pallier les incidents, procédure à suivre en cas d'accident.</p> <p>Préconisations : à généraliser à tous les salariés concernés</p>

II- LES ALGUES TOXIQUES ET LE RISQUE BIOLOGIQUE

2.1. Typologies et toxines associées

Les phycotoxines sont des contaminants dits naturels des aliments car elles sont produites par des micro-organismes, certaines espèces de phytoplancton : « Ces toxines sont des molécules issues du métabolisme secondaire du micro-organisme toxigène, souvent lorsque celui-ci est en situation de stress »⁶.

Les algues toxiques cultivées dans le laboratoire se répartissent entre les espèces citées ci-après.

Les risques semblent mineurs selon les acteurs du laboratoire concerné en raison de la dilution des toxines dans le phytoplancton. Ils s'avèreraient plus importants lors des phases ultérieures d'étude de leur concentration dans les coquillages, puisque des analyses sont réalisées sur les toxines pures. Il conviendrait d'évaluer le niveau de toxicité des cellules manipulées en fonction de la quantité cultivée et la durée d'exposition des agents.

Remarque : actuellement le laboratoire travaille essentiellement à l'aide de souches repiquées dans ses locaux.

A- Espèces cultivées

ALGUE	Toxines présentes ⁷	Toxicité moyenne d'une cellule	Quantification	
			Manipulation (quantités de cultures)	Quantités de cellules / toxicité équivalente
Cultures en ballons → objectif : expériences de bioaccumulation				
<i>Prorocentrum lima</i> : 2 souches espagnoles - PL2V - PL4V	Toxines diarrhéiques DSP : - acide okadaïque - dinophysistoxine 1	3 pg d'acide okadaïque par cellule	Maintien des espèces 13 litres	15.10 ⁶ cellules /litre soit 0,6 mg d'acide okadaïque
<i>Alexandrium tamarense</i> souche MOG 835, origine Japon	Toxines paralysantes PSP : - neosaxitoxine - gonyautoxines GTX 4, 1 - GTX 3, 2 - Toxines C	8 pg éq. STX ⁸ par cellule	CULTURE 1 litre	20.10 ⁶ cellules /litre soit 0,16 mg éq. STX
<i>Alexandrium fundyense</i> (Canada)	Toxines paralysantes PSP : - saxitoxine - neosaxitoxine - gonyautoxines GTX 4, 1 - GTX 3, 2 - Toxines C1 et C2	13 pg éq. STX par cellule	CULTURE 1 litre	20.10 ⁶ cellules /litre soit 0,26 mg éq. STX
<i>Alexandrium minutum</i> (Bretagne) relativement moins toxique en raison de l'absence de saxitoxine	Toxines paralysantes PSP - GTX 3, 2 - Toxines C1 et C2	3 pg éq. STX par cellule	CULTURE 400 litres	50.10 ⁶ cellules /litre soit 60 mg éq. STX
<i>Pseudonitzschia</i> (Bretagne)	Toxines amnésiantes ASP - acide domoïque	Rf. Bibliographique : 7 pg d'acide domoïque par cellule ESSAI DE MISE EN CULTURE		
Culture en bioréacteurs → objectif : écophysiologie (étude des facteurs de croissance des toxines)				
<i>Alexandrium minutum</i> (Bretagne)	Toxines paralysantes PSP - GTX 3, 2 - Toxines C1 et C2	3 pg éq. STX par cellule	CULTURE 14 litres	25.10 ⁶ cellules /litre soit 0,7 mg éq. STX
<i>Alexandrium catenella/tamarense</i> (Thau)	Toxines paralysantes PSP : - B1 - GTX 4, 1 - Toxines C1 et C2	8 pg éq. STX par cellule	CULTURE 14 litres	25.10 ⁶ cellules /litre soit 2,8 mg éq. STX

⁶ Colloque « Risques toxicologiques », 23 et 24 mars 2000, Paris, organisé par l'Association pour la Recherche en Toxicologie

⁷ Source : calculs réalisés par les acteurs du laboratoire, validation par le Directeur de département DEL/MP

⁸ Pour les PSP, la toxicité est généralement exprimée en équivalent saxitoxine (éq. STX)

2.2. Evaluation du risque biologique

Deux paramètres permettent d'évaluer le risque biologique : la toxicité (T) et la probabilité de contact (P).
Le risque potentiel devient réel quand il y a dispersion.

Il convient de déterminer :

- s'il existe une dose seuil DS, dose à partir de laquelle se produit un effet toxique prenant en compte les paramètres suivants : conditions d'exposition, quantités, délais d'apparition et intensité des symptômes (toxicité immédiate, toxicité à long terme).
- différentes valeurs : concentration tolérée dans l'air, valeurs limites d'actions biologiques VLAB cf. études épidémiologiques.

Toutefois, actuellement, les seules données existantes sur la contamination par les phycotoxines concernent la consommation de coquillages et sont traduites par des valeurs seuils de concentration de toxines dans la chair des mollusques.

Intoxication par phycotoxines suite à l'absorption de fruits de mer

Toxines	Symptômes	Manifestations
diarrhéiques DSP ou Diarrhetic Shellfish Poison	- diarrhées, douleurs abdominales, parfois nausées et vomissements	- moins de 12 heures après l'ingestion
paralysantes PSP ou Paralytic Shellfish Poison	- intoxication faible : fourmillements aux extrémités, engourdissements autour des lèvres, vertiges, nausées, pouls rapide, incoordination motrice - intoxication forte : paralysie et troubles respiratoires pouvant être mortels	- moins de 30 minutes après l'ingestion
amnésiastes ASP ou Amnesic Shellfish Poison	- 1ers symptômes de type gastro-intestinal (vomissements, diarrhées...) - 2 ^e phase : symptômes neurologiques (maux de tête, trouble de l'équilibre ou de la vue à court terme...) - cas graves : perte de mémoire, altérations de la conscience, parfois convulsions et coma	- 1ers symptômes : 2 à 24 heures après l'ingestion - 2 ^e : 24 à 48 heures

⇒ Seuils officiels d'interdiction de mise sur le marché des coquillages :

- Intoxication diarrhéique - **DSP** : interdiction de mise sur le marché de mollusques ayant révélé un test positif sur souris (*Directive N° 91/492/CEE du 15 juillet 1991*)
- Intoxication paralytique - **PSP** : 80 µg équivalent-saxitoxine pour 100 g de chair totale (*Directive N° 91/492/CEE*), notons que certains pays réduisent ce seuil à 40 µg
- Intoxication amnésique - **ASP** : 20 µg d'acide domoïque par gramme de chair totale (*Directive N° 97/61/CEE du 20 octobre 1997*)

Intoxication potentielle des acteurs du laboratoire

Mode de contamination potentiel	Estimation de la probabilité de contamination par les acteurs concernés
Voie cutanée : coupure par de la verrerie cassée contaminée, par l'ouverture d'ampoules contenant les toxines... : nécessité d'une plaie => passage dans le sang	risque estimé comme très improbable
Voie digestive : essentiellement par le pipetage oral à proscrire, contamination par une cigarette, l'alimentation au laboratoire, l'absence de port de gants	risque estimé comme très improbable car résultant d'un acte volontaire « inconcevable »
Voie aérienne : inhalation d'aérosols contenant des phycotoxines produits par la plupart des travaux en laboratoire (pipetage, ouverture de récipients contenant des cultures...)	risque estimé comme très improbable

2.3. Réglementation en vigueur : arme chimique et biologique, risque biologique

A- Arme chimique et biologique

L'approvisionnement en toxines pures du laboratoire⁹

Dans le cadre de ses activités d'analyse de la concentration dans les coquillages, le laboratoire s'approvisionne en toxines auprès de l'*Institut des Biosciences Marines* (IBM) du *Conseil National de Recherches Canadien* (CNRC).

Les étalons commercialisés sont les suivants :

- « intoxication paralysante par les coquillages » (codes : PSP-1C, STXdiHCL-C, B1, MUS-3),
- « intoxication amnésiante par les coquillages » (codes : DACS-1C, MUS-1B, MUS-1),
- « intoxication diarrhéique par les coquillages » (codes : OACS-1, MUS-2).

Ils sont accompagnés d'une documentation scientifique, de fiches techniques de santé/sécurité. Les commandes de ces produits sont réalisées à partir d'un formulaire qui ne mentionne aucune formalité juridique pour l'envoi des étalons, ce qui apparaît surprenant en raison de la toxicité des produits et du mode d'expédition par Fedex.

Contexte réglementaire

L'une des toxines utilisées par le laboratoire, la saxitoxine, est répertoriée en tant qu'arme chimique et conduit à l'obligation d'une déclaration annuelle du stock, des quantités importées et consommées, qui est assurée par un membre du laboratoire.¹⁰

Cette déclaration s'intègre dans le cadre de l'application de la *Convention sur l'Interdiction de la mise au point, de la fabrication, du stockage et de l'emploi des Armes Chimiques et sur leur destruction* (CIAC) qui soumet les activités dites licites à un régime de vérification¹¹. Elle est régie par le *Service d'Application des Contrôles Internationaux (SACI) de l'Institut de Protection et de Sécurité Nucléaire (IPSN)* sur la base de formulaire à renseigner par les établissements concernés, transmis à l'*Organisation pour l'Interdiction des Armes Chimiques* (OIAC), plus connue sous sa dénomination anglaise d'*Organisation for the Prohibition of Chemical Weapons* (OPCW).

Convention sur l'Interdiction des Armes Chimiques, CIAC

- ratifiée par la France, autorisée par la loi N°94-1098 du 19 décembre 1994, intervenue le 2 mars 1995
- entrée en vigueur le 29 avril 1997, régime de déclaration dans le cadre des activités considérées comme licites

Convention sur l'interdiction des armes biologiques et à toxines/Biological and Toxin Weapons Convention, BTWC

- En avril 1972, la Convention sur l'interdiction de la mise au point, de la fabrication et du stockage des armes bactériologiques (biologiques) et à toxines et sur leur destruction a été adoptée par l'Assemblée générale des Nations unies, et signée par les principaux pays.
- Les États signataires s'engagent :
 - à ne jamais, et en aucune circonstance, mettre au point, fabriquer, stocker, ni acquérir d'une manière ou d'une autre ni conserver d'agents microbiologiques ou autres agents biologiques, de toxines ou d'armes à des fins hostiles,
 - à détruire ou à convertir à des fins pacifiques tous les agents, toxines, armes, équipements et vecteurs visés et à ne pas transférer ni appuyer d'une autre façon la fabrication de tels objets par d'autres États ou des organisations internationales.
- Mais, à la différence d'autres traités, la Convention ne renferme pas de dispositions relatives à la vérification. Récemment, le Conseil de l'Union européenne a réaffirmé sa volonté de mise en place d'un protocole juridiquement contraignant instituant un régime de vérification visant à renforcer le respect de cette convention (position commune du 17 mai 1999).

⁹ Source : site internet de l'IBM

¹⁰ Source : *Manuel de déclaration*, page 7, Produits chimiques et toxines

¹¹ *Convention 13 janvier 1993, art.II* : activités poursuivies à des fins de recherche considérées comme licites.

B- Le risque biologique

Critères réglementaires

- Décret n° 94-352 du 4 mai 1994 : mesures pour la protection des travailleurs contre les risques résultant de leur exposition à des agents biologiques et modifiant le Code du Travail en y ajoutant une section sur la prévention du risque biologique.
- Ce texte est complété par l'Arrêté du 18 juillet 1994 (mise à jour en 1997 et en 1998) : classification des agents biologiques pathogènes + classification communautaire *Annexe III de la Directive 2000/54/CE* : les bactéries, les virus, les parasites, les champignons
- Arrêté du 13 août 1996 : mesures techniques de prévention, notamment de confinement à mettre en œuvre dans les industries et les laboratoires de recherche et d'enseignement où les travailleurs sont susceptibles d'être exposés à des agents biologiques pathogènes (*Vu la directive 90/679/CEE*)
- Directive 2000/54/CEE du 18 septembre 2000 concernant la protection des travailleurs contre les risques liés à l'exposition à des agents biologiques au travail (*directive 90/679/CE* modifiée est abrogée) :
 - fixation des prescriptions minimales pour la protection des travailleurs contre les risques résultant d'une exposition à des agents biologiques : identification et évaluation des risques, mesures de réduction des risques, mesures d'hygiène et de protection individuelle, procédures d'information et de formation des travailleurs, mesures de surveillance médicale *cf. prescriptions Code du Travail*.
 - annexes : modèle de panneau signalant le danger biologique, niveaux de classification des agents biologiques pathogènes, recommandations sur la surveillance médicale des travailleurs, procédures de confinement et code de conduite en ce qui concerne la vaccination des salariés

La réglementation en vigueur classe les agents biologiques en quatre groupes, suivant l'importance des risques d'infection qu'ils présentent. Une évaluation préalable des risques encourus par les travailleurs au cours de l'activité considérée doit être réalisée par le chef d'établissement en tenant compte de l'ensemble des connaissances disponibles sur le (ou les) agent(s) biologique(s) dont l'utilisation est envisagée.

Le chef d'établissement est tenu de faire respecter un certain nombre de règles, visant notamment à éviter toute dissémination des agents biologiques sur le lieu et hors du lieu de travail. Il doit aussi assurer la formation et l'information des travailleurs exposés, en ce qui concerne leur protection individuelle et le respect des méthodes de travail minimisant les risques de contamination.

• Définitions et classement des agents biologiques

Art. R. 231-61 (Décret no 94-352 du 4-5-94)

Définitions

- Agents biologiques : les micro-organismes, y compris les micro-organismes génétiquement modifiés, les cultures cellulaires et les endoparasites humains susceptibles de provoquer une infection, une allergie ou une intoxication,
- Micro-organisme : une entité microbiologique, cellulaire ou non, capable de se reproduire ou de transférer du matériel génétique,
- Culture cellulaire : le résultat de la croissance in vitro de cellules isolées d'organismes multicellulaires.

Art. R. 231-61-1

Classement en 4 groupes : niveaux de risques

- ⇒ groupe 1 : agents biologiques non susceptibles de provoquer une maladie chez l'homme ;
- ⇒ groupe 2 : agents biologiques pouvant provoquer une maladie chez l'homme et constituer un danger pour les travailleurs ; leur propagation dans la collectivité est peu probable ; il existe généralement une prophylaxie ou un traitement efficaces ;
- ⇒ groupe 3 : agents biologiques pouvant provoquer une maladie grave chez l'homme et constituer un danger sérieux pour les travailleurs ; propagation dans la collectivité possible, mais existence de mesures ou un traitement efficaces ;
- ⇒ groupe 4 : les agents biologiques qui provoquent des maladies graves chez l'homme et constituent un danger sérieux pour les travailleurs ; le risque de leur propagation dans la collectivité élevé ; absence de mesures et de traitement efficaces.

Sont considérés comme agents biologiques pathogènes : les agents biologiques des groupes 2, 3 et 4.

▪ Règles générales d'évaluation et de prévention du risque biologique

Art. R. 231-62 - Evaluation du risque biologique

Le chef d'établissement doit déterminer : la nature, la durée et les conditions de l'exposition des travailleurs pour toute activité susceptible de présenter un risque d'exposition à des agents biologiques. Cette évaluation doit se baser sur le classement prévu à l'article R. 231-61 et des maladies d'origine professionnelle dues à l'exposition aux agents biologiques mais tenir compte également de toutes les informations disponibles, notamment de celles relatives aux

infections susceptibles d'être contractées du fait de l'activité professionnelle par les travailleurs et de celles concernant les effets allergisants et toxiques pouvant résulter de l'exposition aux agents biologiques.

Art. R. 231-62-2

Si l'évaluation réalisée révèle l'existence d'un risque pour la sécurité ou la santé des travailleurs, et si l'exposition ne peut être évitée, elle doit être réduite en prenant certaines mesures :

- a) limitation au niveau le plus bas possible du nombre de travailleurs exposés ou susceptibles de l'être,
- b) définition des processus de travail et des mesures de contrôle technique ou de confinement,
- c) signalisation du danger,
- d) mesures de protection collective,
- e) mesures d'hygiène appropriées,
- f) établissement de plans en cas d'accidents impliquant des agents biologiques pathogènes,
- g) détection, si elle est techniquement possible, de la présence, en dehors de l'enceinte de confinement, d'agents biologiques pathogènes utilisés au travail ou, à défaut, de toute rupture de confinement,
- h) procédures et moyens de tri, collecte, stockage, transport et élimination des déchets,
- i) mesures permettant de manipuler et de transporter sans risque des agents biologiques.

▪ Obligations du chef d'établissement

Art. R. 231-62 -3 - en cas de manipulation d'agents biologiques pathogènes :

- **établir une consigne de sécurité** interdisant l'introduction, par les travailleurs (...) dans les lieux de travail où existe un risque de contamination, de nourriture et de boissons, d'articles pour fumeurs, de cosmétiques et de mouchoirs autres que les mouchoirs en papier, qui devront être éliminés comme des déchets contaminés.
- **fournir aux travailleurs des moyens de protection individuelle**, notamment des vêtements de protection appropriés et veiller à leur enlèvement lorsque le travailleur quitte le lieu de travail ;
- lorsque les moyens de protection individuelle sont réutilisables, s'assurer qu'ils sont rangés dans un endroit spécifique, nettoyés, désinfectés et vérifiés avant et après chaque utilisation et, s'il y a lieu, réparés ou remplacés ;
- mettre à la disposition des travailleurs des **installations sanitaires appropriées, un dispositif de lavage oculaire et des antiseptiques pour la peau** ; enfin, s'il y a lieu, des collyres prescrits par le médecin du travail ;
- pour les activités impliquant le prélèvement, la manipulation et le traitement d'échantillons d'origine humaine ou animale, mettre au point des **procédures et mettre à disposition des travailleurs des matériels adaptés visant à minimiser les risques de contamination.**

Art. R231-63 - Obligations d'informations et de formation des travailleurs

- formation à la sécurité, dispensée avant que les travailleurs n'exercent une activité impliquant un contact avec des agents biologiques (fréquence régulière, liée à l'évolution des risques et lors de la modification significative des procédés de travail).
- fourniture d'instructions écrites portant sur la procédure à suivre : en cas d'accident ou d'incident grave mettant en cause un agent biologique pathogène ; lors de la manipulation de tout agent biologique du groupe 4, notamment lors de l'élimination de celui-ci.

Art. R. 231-63-2 – Liste des travailleurs exposés

Rédaction par le chef d'établissement, après avis du médecin du travail, d'une liste des travailleurs exposés à des agents biologiques des groupes 3 ou 4, conservée au moins dix ans après la fin de l'exposition.

Art. R. 231-63-4 – Déclaration de l'utilisation d'agents biologiques pathogènes

L'utilisation pour la première fois d'agents biologiques pathogènes doit être déclarée à l'inspecteur du travail au moins trente jours avant le début des travaux.

Cette déclaration, à renouveler à chaque changement important des procédés ou des procédures, comprend :

- a) La dénomination et le siège social de l'entreprise et l'adresse de l'établissement ;
- b) Le nom et l'adresse du médecin du travail ;
- c) Le nom et la qualité de la personne qui, le cas échéant, est chargée de la fonction sécurité sur le lieu de travail ;
- d) Le résultat de l'évaluation prévue à l'article R. 231-62 ;
- e) L'espèce ou, à défaut, le genre auquel appartient chaque agent biologique concerné ;
- f) Les mesures de protection et de prévention envisagées.

Obligation imposée également pour les agents biologiques non classés dès lors qu'existe une présomption de leur caractère pathogène.

C- Les algues toxiques

▪ Au niveau réglementaire, le terme pathogène ne s'applique qu'aux micro-organismes susceptibles de provoquer chez l'homme une pathologie infectieuse. Toutefois, l'exposition à des agents biologiques présente d'autres risques, notamment « toxiques ». Selon les recommandations de l'INRS, *Institut National de Recherche et de Sécurité*, l'évaluation des risques professionnels ne doit pas s'appliquer uniquement aux micro-organismes classés ce qui est également mentionner dans l'article *Art. R. 231-62 – du Code du Travail*.

Notons que cet institut exerce un rôle d'expertise auprès du Ministère du Travail, notamment dans le cadre de l'élaboration de la liste européenne de classement des micro-organismes.

Ainsi, le *Comité international de l'Association Internationale de la Sécurité Sociale, AISS, pour la prévention des risques professionnels dans l'industrie chimique* qui a créé en 1991 un groupe de travail « biotechnologies » intègre dans sa définition d'agents biologiques : les algues en tant que micro-organismes, mais n'aborde pas cette thématique dans ses publications : « Les algues sont bien des agents biologiques, mais ne sont pas traitées dans cette brochure comme elles ne le sont pas dans la Directive européenne sur la protection des travailleurs (*directive 2000/54/CEE*) »¹².

• Au niveau scientifique, plusieurs équipes de recherche essentiellement parisiennes, se sont regroupées en 1997 au sein d'un GIS¹³ dénommé *CABAMIRA, Contaminants des aliments d'origine animale et des eaux de boisson, analyse des mécanismes impliqués et des risques associés*. Sa direction est assurée par Mme PUISEUX-DAO, spécialiste des algues toxiques de l'Université de Paris VII et le secrétariat par Mme DRAGACCI, Directrice du laboratoire de référence sur les Phycotoxines de l'AFSSA¹⁴. Ce groupe est fédéré autour d'une thématique principale : les cyanobactéries, algues d'eaux douces mais envisage d'étendre ses activités à d'autres contaminants.

Observations/Préconisations

Il n'existe pas actuellement de cadre légal régissant les conditions de manipulations et de cultures des algues toxiques. Elles sont définies par les membres du laboratoire comme agents biologiques toxiques, non pathogènes. Toutefois les toxines dont elles sont porteuses, présentent un risque pour la santé humaine. Il conviendra de déterminer le niveau de risque induisant le niveau de confinement du laboratoire et les mesures de prévention à appliquer pour garantir la sécurité des acteurs du laboratoire, notamment :

- ⇒ la rédaction d'un protocole de manipulation qui sera communiqué à tout nouvel arrivant et diffusé auprès de chaque acteur du laboratoire,
- ⇒ l'utilisation d'un équipement adapté (poste de sécurité biologique...) et le suivi des Bonnes Pratiques Biologiques.

Certaines interrogations restent soulevées :

- la dilution des toxines dans le phytoplancton garantie-t-elle l'absence de risques de contamination pour le manipulateur ?
- un parallèle avec les règles préconisées par l'INRS pour l'utilisation et la manipulation de produits et substances potentiellement génotoxiques (cancérogènes, mutagènes et/ou toxiques pour la reproduction) ne peut-il être conduit pour les espèces les plus toxiques ? En effet, il semble que « *l'acide okadaïque (phycotoxines diarrhéiques) est un promoteur tumoral suspecté d'être également un génotoxique* »¹⁵.
- Des effets néfastes sur la santé des acteurs du laboratoire ne peuvent-ils pas se manifester après des années d'exposition ?

¹² Publication du Comité international de l'AISS, *Maîtrise du risque dans l'emploi d'agents biologiques*, page 15

¹³ Groupement d'Intérêt Scientifique

¹⁴ Source : entretien avec Mme Dragacci, AFSSA

¹⁵ Colloque « *Risques toxicologiques* », 23 et 24 mars 2000, Paris, organisé par l'Association pour la Recherche en Toxicologie, Sylviane Dragacci, AFSSA

III- LES DIFFERENTS MODES DE CULTURE (SYSTEME)

La réalisation d'un descriptif des différentes étapes de travail pour chaque séquence étudiée (culture en ballons, culture en bio réacteurs, destruction des cultures et nettoyage du matériel) constitue une démarche préalable à l'évaluation des risques professionnels. Elle permet de synthétiser sous forme de modes opératoires, à chaque étape d'activité, les informations suivantes : l'acteur concerné, le détail des tâches, leur localisation, le matériel, les équipements et les produits utilisés et le contexte des manipulations.

Les modes opératoires présentés ci-après ont été créés sur la base d'une synthèse des différents entretiens menés auprès des acteurs concernés, qui les ont ultérieurement validés.

3.1. Phase préalable : la création des Milieux de culture

A- Typologies

3 types de milieux sont actuellement préparés par le laboratoire :

Culture en ballons	Culture en bio réacteurs
<ul style="list-style-type: none"> Milieu 1 : préparation de l'Université de Caen Milieu 2 : ESP de Provasoli Milieu 3 : F/2 	<ul style="list-style-type: none"> Milieu 1 : F/2 Milieu 2 : K

B- Mode opératoire

- Milieu ES de PROVASOLI : préparation ponctuelle pour une utilisation ultérieure

1/ Préparation de la solution mère I : mélange dans 5 litres d'eau distillée de		
35,1 g	Fe (NH ₄) ₂ (SO ₄) ₂ , 6H ₂ O	Ammonium, fer, sulfate <i>solide</i>
33 g	Na ₂ EDTA	Titriplex III, acide éthylène dinitrilotétraacétique <i>solide</i>
2/ Préparation de la solution mère II : mélange dans 5 litres d'eau distillée de		
57 g	H ₃ BO ₃	Acide borique <i>solide</i>
2,45 g	FeCl ₃ , 6H ₂ O	Chlorure ferrique <i>solide</i>
8,2 g	Mn SO ₄ , H ₂ O	Sulfate de manganèse <i>solide</i>
1,1 g	Zn SO ₄ , 7 H ₂ O	Sulfate de zinc <i>solide</i>
0,24 g	CoSO ₄ , 7 H ₂ O	Sulfate de cobalt <i>solide</i>
50 g	Na ₂ EDTA	Titriplex III <i>solide</i>
3/ Préparation de la solution mère III : mélange dans 3 litres d'eau distillée de		
700 g	Na NO ₃	Nitrate de sodium <i>solide</i>
4/ Préparation de la solution mère IV : mélange dans 1 litre d'eau distillée de		
100 g	Na ₂ glycérophosphate	Sodium glycérophosphate <i>solide</i>
5/ Préparation de la solution mère V : mélange dans 4 litres d'eau distillée de		
1000 g	TRIS	Trihydroxyméthylaminométhane <i>solide</i>
6/ Préparation de la solution mère VI : mélange dans 1 litre d'eau distillée de vitamines		
7/ Mélange de toutes les solutions mères et ajustement à 20 litres		
8/ Ajustement du pH à 7,8 avec 330 ml d'Acide chlorhydrique fumant (HCl) <i>liquide</i>		
9/ Répartition dans 20 flacons en pyrex de 1 litre		
10/ Autoclavage (15 minutes à 120°C)		

1/ Stockage pour utilisation ultérieure par flacon de 1 litre (sous-sol à l'abri de la lumière dans des cartons)

→ PHASE DE MISE EN CULTURE : utilisation de 2 ml de milieu par litre d'eau de mer

- Milieu F/2 : préparation des solutions mères au fur et à mesure de la mise en culture

1/ Préparation de la solution mère I : mélange dans 100 ml d'eau distillée de

7,5 g	Na NO ₃	Nitrate de sodium
-------	--------------------	-------------------

2/ Préparation de la solution mère II : mélange dans 100 ml d'eau distillée de

0,5 g	NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O	Sodium dihydrogénophosphate
-------	----------------------------------------------------	-----------------------------

3/ Préparation de solutions métalliques » : préparation tous les 6 mois pour stockage

- mélange séparé de chaque élément métallique dans 100 ml d'eau distillée

0,98 g	CuSO ₄ .5H ₂ O	Sulfate de cuivre
--------	--------------------------------------	-------------------

2,2 g	Zn SO ₄ .7H ₂ O	Sulfate de zinc
-------	---------------------------------------	-----------------

1,00 g	CoCl ₂ .6H ₂ O	Chlorure de cobalt
--------	--------------------------------------	--------------------

18,00 g	MnCl ₂ .4H ₂ O	Chlorure de manganèse
---------	--------------------------------------	-----------------------

0,63 g	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	Molybdène de sodium
--------	-----------------------------------------------------	---------------------

- stockage dans réfrigérateur : mention sur le ballon de la date et du nom de la solution

4/ Préparation de la solution mère III « traces métalliques » :

- mélange dans 90 ml d'eau distillée

0,436 g	Na ₂ EDTA	Titriplex III, acide éthylène dinitrilotétraacétique
---------	----------------------	------------------------------------------------------

- ajout de 0,1 ml des solutions métalliques préparées à l'avance

- ajout de chlorure ferrique

0,15 ml	FeCl ₃	chlorure ferrique
---------	-------------------	-------------------

- ajustement à 100 ml

5/ Mélange des solutions mères I, II et III dans de l'eau de mer : solution finale
(utilisation pour 1 litre d'eau de mer de 1 ml de solution finale)

6/ Autoclavage (15 minutes à 120°C)

7/ Solution IV : ajout de vitamines

- Milieu K

Préparation identique au milieu F/2 + ajout de TRIS (Trihydroxyméthylaminométhane)

3.2. Modes opératoires de la mise en culture

A- La culture en ballons

Etape	Acteur concerné QUI	Tâche FAIT QUOI	Locaux Où	AVEC QUOI		COMMENT
				MATERIELS	PRODUITS	
1- PREPARATION DES SOLUTIONS MERES (solutions d'enrichissement de l'eau de mer)	Technicien, responsable de cultures (habilité conduite d'autoclave) (formé aux risques chimiques)	1- Préparation de solutions mères : pesée et dilution de différents composés solides dans de l'eau distillée 2- Réalisation de la solution finale par mélange des différentes solutions mères 3- Autoclavage ↓ OU ↓ 4 ¹ - Stockage <i>milieu ES PROVASOLI</i> réalisation tous les 4 ans OU 4 ² - Utilisation immédiate <i>Milieux F/2 ou K</i>	Laboratoire S151 Laboratoire S151 Salle autoclave adjacente à S195 Salle de cultures S185 Salle en sous-sol	Autoclave - bouchons en cellulose - ballons en PYREX de 500 ml, 1 litre	Voir liste suivant différents milieux de culture cf. 3.1. Stockage des produits chimiques dans une armoire située dans le couloir	- port de blouse - absence de port d'EPI (équipement de protection individuelle) - PHASES 1-2 : manipulations sur paillasse
2- FINALISATION PREPARATION DES MILIEUX ET MISE EN CULTURE (ensemencement)	Technicien, responsable de cultures	1- Versement dans un ballon de l'eau de mer 2- Ajout d'une quantité de solutions mères (variation suivant le milieu de culture cf. 3.1.) 3- Autoclavage (15 minutes à 120°C) 4- Refroidissement des ballons 5- Introduction des souches : 2 origines potentielles ↓ OU ↓ Souches stockées dans Armoire Thermostatée OU Souches stockées dans la salle de cultures S185	Laboratoire S151	Stockage de souches issues de repiquages antérieurs - Armoire Thermostatée : 20 ballons de 500 ml - Salle de cultures S185 : 20 ballons de 500 ml Contenance des ballons 500 ml = 300 ml de culture		- PHASES 1, 2, 5 : manipulations sous la hotte à flux laminaire HORIZONTAL
↓						
3¹ – MAINTIEN EN CULTURE OU ENTRETIEN DES SOUCHES				3² – CULTURE EN MASSE		

3¹ – MAINTIEN EN CULTURE	Technicien, responsable de cultures	1- Maintien en culture durant 18 jours en moyenne 2- Changement et introduction de milieux neufs : suivant étape 2	Stockage : salle S185	Stockage en double - Armoire Thermostatée : 20 ballons de 500 ml - S185 : 20 ballons de 500 ml		- versement de ballon à ballon (volumes imprécis) - sous la hotte à flux laminaire HORIZONTAL
3² – CULTURE EN MASSE Montée en puissance des quantités cultivées	Technicien, responsable de cultures	Comptage des cellules réalisé : - au démarrage de la culture - tous les 15 jours <ul style="list-style-type: none"> • prélèvement dans le ballon de culture d'une quantité de culture déposée dans un cristalliseur (par versement) • versement d'une goutte de LUGOL • pipetage de quelques ml de culture avec une pipette Pasteur • dépôt de quelques gouttes de culture par glissement sur une cellule de comptage recouverte d'une lamelle • comptage des cellules au microscope • rinçage et nettoyage à l'eau distillée puis essuyage à l'aide de sopalin de la cellule de comptage + rangement 	Laboratoire S 151	<i>Remarque :</i> <i>introduction dans le ballon d'air comprimé, à l'aide d'un tube relié aux canalisations internes (bullage)</i> Matériels : - ballons en PYREX - bouchons en cellulose - pipette pasteur en verre Contenance des ballons 500 ml = 300 ml de culture 1 litre = 600 ml de culture 2 l = 1 litre de culture 10 l = 8 litres de culture Exemple quantification des cellules (<i>Alexandrium minutum</i>) - démarrage de culture : 1 à 3 millions de cellules par l - fin de culture : 25 à 80 millions de cellules par litre	LUGOL	- comptage : sous la hotte à flux laminaire HORIZONTAL
<i>Destruction des cultures</i>	<i>Aide de laboratoire</i>	<i>Transport à la laverie par le technicien (dépôt sur une tablette près de la fenêtre) des ballons fermés à l'aide d'un bouchon en cellulose ou de papier aluminium</i>	<i>Laverie S167</i>			

B- Bio réacteurs

Etape	Acteur concerné QUI	Tâche FAIT QUOI	LOCAUX Où	AVEC QUOI		COMMENT														
				MATERIELS	PRODUITS															
1- PREPARATION DES MILIEUX DE CULTURE (solutions d'enrichissement de l'eau de mer)	Technicien (non habilité à la conduite d'autoclave) (formé aux risques chimiques)	1- Préparation de solutions mères : pesée et dilution de différents composés solides dans de l'eau distillée 2- Réalisation de la solution finale (milieu) par mélange des différentes solutions mères 3- Stérilisation par filtration et placement du bouchon de fermeture ↓ OU 4 ¹ - Stockage dans réfrigérateur 4 ² - Utilisation immédiate	Laboratoire S151	Filtrage : à l'aide d'une pompe à vide (membrane et tuyau conducteur d'air) - flacons prêts à l'emploi pour une stérilisation	Voir liste suivant différents milieux de culture Stockage des produits chimiques dans une armoire située dans le couloir	- port de blouse - port de gant - PHASES 1-2-3 : manipulations sur paillasse - PHASE 3 : placement du bouchon sous la hotte à flux laminaire HORIZONTAL														
2- FINALISATION PREPARATION DES MILIEUX ET MISE EN CULTURE (ensemencement)	Technicien	1- Autoclavage de l'eau de mer 2- Refroidissement des ballons 3- Ajout d'une quantité de solutions mères (variation suivant le milieu de culture cf. 3.1.) 4- Introduction des souches : 2 origines potentielles ↓ OU Souches stockées issues de repiquage salle S185 Souches transmises par autres laboratoires (tubes) ↓ MAINTIEN EN CULTURE cf. 3 ¹	Salle autoclave adjacente à S195 Laboratoire S151 Stockage Salle de culture S185 + sous-sol S985	PHASE 1 : Contenance des ballons en eau de mer <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ballons de</th> <th>Eau de mer</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>500 ml</td> <td>250 ml</td> </tr> <tr> <td>1 litre</td> <td>500 ml</td> </tr> <tr> <td>10 litres</td> <td>8 l</td> </tr> </tbody> </table> Stockage des souches : - ballons en PYREX - bouchons en silicone Identification sur ballon : espèce, n° de souche, date de l'inoculation	Ballons de	Eau de mer	500 ml	250 ml	1 litre	500 ml	10 litres	8 l	Souches stockées <table border="1"> <thead> <tr> <th>Ballons de</th> <th>Nb cellules</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>500 ml</td> <td>35 millions</td> </tr> <tr> <td>1 litre</td> <td>70 millions</td> </tr> </tbody> </table> Echange non normalisé de souches avec des laboratoires : utilisation CHRONOPOST avec mention « échantillon biologique, pas de valeur commerciale »	Ballons de	Nb cellules	500 ml	35 millions	1 litre	70 millions	- PHASE 3 : manipulations sous la hotte à flux laminaire HORIZONTAL
Ballons de	Eau de mer																			
500 ml	250 ml																			
1 litre	500 ml																			
10 litres	8 l																			
Ballons de	Nb cellules																			
500 ml	35 millions																			
1 litre	70 millions																			

3- NETTOYAGE DES BIO REACTEURS : préparation d'une solution d'acide peracétique	Responsable de projet <i>ou coordonnateur technique - responsable technique des bio réacteurs, stagiaire</i> (absence de formation aux risques chimiques)	1- Transvasement de 150 ml du bidon de 24 l dans flacon de 100/200 ml 2- Dilution dans un ballon de 10 litres d'eau de 50 ml d'acide peracétique : réalisation de 3 ballons	Transvasement : Sous-sol : salle 997 Dilution : Laboratoire S151	Ballon en pyrex	ACIDE PERACETIQUE BIDON 24 L stocké dans salle 997 (pièce fraîche) => fuite du bec verseur, « odeur irrespirable »	- port d'une blouse en coton - utilisation de gants en latex - pratique de l'apnée
4- NETTOYAGE DES BIO REACTEURS avec une solution d'acide peracétique	Responsable de projet <i>ou coordonnateur technique - responsable technique des bio réacteurs, stagiaire</i>	1- Transvasement de la solution d'ACIDE PERACETIQUE contenu dans les ballons dans les bio réacteurs, à l'aide d'une pompe électrique à galets 2- 2 rinçages avec de l'eau de mer stérile 3- tests de détection de la présence d'acide peracétique (bandelettes + compteur PH)	Salle S183	Pompe électrique à galets : pour le remplissage et le vidage des bio réacteurs 6 bio réacteurs (contenance 2,5 l)	ACIDE PERACETIQUE	Utilisation de la pompe électrique - manipulation manuelle de la pression - maintenance : absence d'entretien par le service de maintenance, réparations effectuées par le technicien principal - possibilité sol mouillé
5- INTRODUCTION DES MILIEUX ET DES SOUCHES	Responsable de projet <i>ou coordonnateur technique - responsable technique des bio réacteurs, stagiaire</i>	Remplissage des bio réacteurs à l'aide d'une pompe électrique à galets	Salle S183	Pompe électrique à galets Ballons en pyrex : 500 ml, 2 l, 10 l	Exemple quantification des cellules <u>démarrage de culture :</u> 2,5 millions de cellules par litre dans 2,3 litres de milieu <u>fin de culture :</u> 80 millions cellules par litre dans 2 litres de milieu	-
6- CULTURE	Technicien	Comptage des cellules (périodicité quotidienne) : 1- Prélèvement d'un échantillon de cultures de 10 ml à l'aide d'une seringue reliée au bio réacteur 2- Versement dans un flacon de 10 ml 3- Ajout de quelques gouttes de LUGOL à l'aide d'une pipette Pasteur munie d'une pro pipette 4- Prélèvement et dilution dans de l'eau de mer de 1 à 2 ml d'échantillon 5- Insertion dans une cuve de 10 ml et fermeture avec un verre de montre 6- Comptage au microscope des cellules 7- Rinçage de la cuve à l'eau + rangement	Phases 1 à 5 : Salle S151 sur paillasse Phase 6 : déplacement dans un bureau S129	Bouteille de CO ₂ (bullage) : ouverture et fermeture réalisées par le responsable de cultures ou le technicien principal Pipette stérile à usage unique munie d'une pro pipette	LUGOL	- port de gants

Nettoyage de la verrerie classique (« petite » verrerie)	Aide de laboratoire	1- Récupération des portoirs situés dans le laboratoire S151 2- Rinçage à l'eau claire de la verrerie 3- Transport à l'autolaveur pour lavage automatisé <i>cf. étape spéciale</i>	S167	Verrerie : éprouvettes, bêchers, pipettes Pasteur		principe du laboratoire : toute verrerie déposée dans les portoirs doit être préalablement rincée par le manipulateur
<i>étape spéciale</i> lavage automatisé	Aide de laboratoire	1- 1 ^o lavage avec un détergent acide et neutralisant (TFD poudre) 2- 2 rinçages avec un liquide spécifique (Neutrax PF : acide)	2 ^e étage du bâtiment scientifique	autolaveur	- TFD Poudre : 2 doses (doseur spécifique) - Neutrax PF : dosage dans l'évier et dans un bécher de 250 ml de 50 ml de liquide puis introduction dans l'autolaveur	transport de la verrerie sur chariot par ascenseur
Enlèvement des inscriptions sur les ballons (utilisation différents produits)	Aide de laboratoire	Ethanol : enlèvement à l'aide de sopalin	S167		- flacon Ethanol de 1 l	- port de gants - manipulation sur paillasse
		Acétone : enlèvement à l'aide de sopalin	S167		- flacon d'Acétone 2,5 l	- port de gants - manipulation sur paillasse
Lavage des sols	Aide de laboratoire	Périodicité : tous les 15 jours Utilisation d'extrait d'eau de javel	Salles de culture S185 et S183 Salle en sous-sol S985		Dosage : 1 berlingot de 25 cl dans un seau de 7 l d'eau	- port de gants

IV- ANALYSE DES RISQUES POUR CHAQUE ETAPE (DECOMPOSITION EN SOUS-SYSTEMES)

4.1. Présentation de la méthodologie d'évaluation collective des risques professionnels

- Evaluer les risques consiste à identifier les différents dangers ou événements redoutés capables de provoquer un dommage sur l'individu.

$$\text{RISQUE} = \text{G} \times \text{P}$$

Gravité ou impact sur l'individu *Probabilité d'exposition ou de contact*

- Dans cette perspective, différents outils ont été créés pour identifier les risques encourus par les acteurs à chaque étape du processus de culture :
 - ⇒ étude des modes opératoires des 3 séquences de travail étudiées cf. pages 19 à 24
 - étude réglementaire des équipements, produits (substances et préparations dangereuses) et matériels : détermination des conformités et non-conformités cf. A. page 26
 - ⇒ grille de cotation du risque cf. B. page 36
 - ⇒ fiche « analyse de risques » cf. ci-après
- Pour chaque étape des séquences de travail étudiées, une fiche outil d'analyse de risques a été pré-remplie et soumise à l'appréciation et l'évaluation des membres du laboratoire lors de 2 réunions.

Etapas d'évaluation collective :

- 1° : identification des dangers
étude des modes opératoires des 3 séquences de travail
étude réglementaire des équipements, produits et matériels
- 2° : identification des personnes exposées
- 3° étape : cotation (*grille de cotation*)
- 4° étape : préconisations de mesures

¹ Citation de la fonction

Fiche outil : ANALYSE DE RISQUES

ETAPE :

Localisation :

Acteur(s) concerné(s)¹ :

Sources de risques	Dangers détectés	Personnes exposées ¹	Evaluation		Chiffre du risque	Mesures préconisées
			G	P		
↑	accident ou incidents possibles en fonctionnement normal ou anormal	↑		↑	↑	

QUOI

- étude des modes opératoires
- étude globale équipements, produits et matériels

- acteur de la séquence de travail
- personnes indirectement concernées (salariés d'entreprises extérieures, autres laboratoires, personnel administratif, personne du Service Logistique et Technique...)
- + personnes plus vulnérables
- stagiaires, employés temporaires, nouveaux embauchés
- femmes enceintes, jeunes mères
- visiteurs

Grille de cotation

A- Etude globale et réglementaire des équipements, produits et matériels

(Légende : C = conformité NC = non-conformité R = remarque)

⇒ EQUIPEMENTS DE TRAVAIL

Critères réglementaires généraux :

- maintenance régulière : assurer le niveau de sécurité requis
- dispositif de protection ou d'arrêt d'urgence (notices d'emploi, affichage des consignes en cas d'équipements fixes)
- dans le cadre des BPL : remises des notices d'emploi des matériels aux nouveaux arrivants
- formation dispensée en cas d'habilitation obligatoire

Autoclave

Arrêté du 16 février 1989 relatif à l'exploitation et aux contrôles périodiques des appareils à pression de vapeur à couvercle amovible (modifié par l'Arrêté du 8 juillet 1992)

- Transmission à l'exploitant d'une notice par le constructeur précisant (Article 2) :
 - les dispositifs de sécurité équipant l'appareil,
 - les entretiens et les vérifications à effectuer ou à faire effectuer (dispositifs de sécurité, système de fermeture – joint...)
 - la périodicité des entretiens et des vérifications en fonction des conditions d'utilisation de l'appareil
- Affichage des consignes de sécurité (Article 4) et mention des éléments suivants :
 - vérifier la fermeture correcte du couvercle avant d'admettre la vapeur dans l'appareil ou de mettre en service le chauffage de celui-ci
 - vérifier l'absence de pression résiduelle avant d'entreprendre ou de commander l'ouverture du couvercle (vérification sur le manomètre et par ouverture du robinet de l'orifice témoin)
- Conduite des appareils par des agents expérimentés et formés (Article 5) : dispositions à justifier par l'exploitant

Une sécurité renforcée

De nouvelles dispositions vont être progressivement intégrées concernant les règles de conception, de fabrication et de contrôle des appareils à pression de vapeur suite à la transposition en droit français de directives européennes.

Désormais les fabricants devront réaliser une analyse des risques de leurs appareils qui devront être conçus de manière à exclure le danger d'une utilisation erronée : obligations pour le fabricant d'indiquer clairement les utilisations à proscrire, de fournir une notice d'instructions détaillée à l'utilisateur...

(Cf. arrêté du 15 mars 2000 modifié par l'arrêté du 13 octobre 2000 relatif à l'exploitation des équipements sous pression).

Pompe à galets

Risque électrique

- Courant électrique dangereux pour l'individu : 48 volts toutefois une tension de 24 volts peut s'avérer dangereuse pour certaines personnes
- Seuils officiels d'électrisation (expression en millième d'ampères) :
 - à partir de 5 mA : seuil de sensibilité (sans danger)
 - 10 mA : contraction musculaire
 - 25 mA : seuil de paralysie respiratoire (nécessité ventilation)
 - 50 mA : seuil de fibrillation ventriculaire (arrêt circulatoire)

Conformité réglementaire de :

- l'installation électrique
 - décret du 14 novembre 1988 complété par des arrêtés et notes techniques : application détaillée dans la norme NF C 15-100
 - depuis le 13 mai 1991 : dispositif de protection à courant différentiel haute sensibilité « 30mA » imposé pour la plupart des prises de courant des installations (Norme NF C 15-100)
 - fonction du dispositif différentiel : éliminer les courants de défaut à la terre (il est en principe associé à une prise de terre).
- des appareils électriques portatifs
 - devant être conformes aux normes de construction électrique : constitués intérieurement par des conducteurs électriques isolés et inaccessibles, étiquetés CE
- maintenance réalisée par des membres du personnel habilités

Hottes à flux laminaire/aspirante

PSM de type II, poste de sécurité microbiologique

- Caractéristiques
 - Le flux d'air qui arrive sur le plan de travail est « laminaire » : son passage à travers un filtre HEPA assure la protection de la manipulation.
 - le même type de filtre placé en extraction assure la protection de l'environnement et celle du personnel.
- ⇒ compromission de la protection du manipulateur par l'encombrement excessif du plan de travail
- Eléments manipulés
 - Agents pathogènes
 - Les échantillons biologiques pouvant contenir de tels agents
- ⇒ interdiction de manipulation : de produits chimiques volatils ou radioactifs, sauf pour leur ajout en petite quantité aux cultures. La préparation des solutions mères sera réalisée en L1 (laboratoire L1 sous une sorbonne)
- Règles d'utilisation
 - Ne placer sur le plan de travail que le matériel nécessaire à la manipulation
 - Après la mise en route attendre quelques instants avant de commencer la manipulation : selon les prescriptions du fabricant
 - Décontaminer le plan de travail après chaque manipulation

Sorbonnes

- Spécificités définies selon la norme NF X 15-203
- Conformités réglementaires
- Art. R. 232-5-7 - un système d'avertissement automatique doit signaler toute défaillance de la ventilation de la sorbonne
- Art. R. 232-5-9 - le contrôle et l'entretien périodique des installations (ex : visualisation de l'écoulement de l'air dans l'ouverture par fumigène)
- Caractéristiques
- Si le risque d'explosion ou de surpression existe, la sorbonne doit être équipée de glaces en verre feuilleté, ou tout autre matériau équivalent.
- Une arrivée d'air de compensation doit être prévue dans la salle où est présente la sorbonne, pour remplacer l'air aspiré par cette dernière.

• Règles générales de prévention du risque chimique (Décret n°92-1261 du 3-12-92)

Art. R. 231-54-2 - Les emplacements de travail où sont utilisées les substances ou préparations chimiques dangereuses définies à l'article R. 231-51 cf. « produits dangereux » doivent être équipés de moyens efficaces assurant l'évacuation des vapeurs, des gaz, des aérosols ou des poussières.

Art. R. 231-54-3 - Les installations et les appareils de protection collective doivent être régulièrement vérifiés et maintenus en parfait état de fonctionnement.

- les résultats des vérifications doivent être tenus à la disposition de l'inspecteur du travail, des agents des services de prévention des organismes de Sécurité Sociale, du médecin du travail et des membres du CHSCT,
- une notice, établie par l'employeur après avis du CHSCT fixe les procédures à mettre en œuvre pour assurer la surveillance et la maintenance des installations de protection collective.

Désignation	Caractéristiques	Conformité réglementaire	Observations
AUTOCLAVE	<ul style="list-style-type: none"> - autoclave horizontal à couvercle amovible à fermeture rapide - appareil sous pression : pression ne devant pas excéder 4 bars - fermeture de la porte de l'autoclave : joint à air comprimé → air comprimé issu des canalisations internes du bâtiment injecté dans le joint et le circuit de refroidissement - durée de vie 15 ans 	<p>NC : absence de dispense de formation à la conduite d'autoclave à tous les acteurs l'utilisant</p> <p>C : affichage d'une liste des utilisateurs habilités</p> <p>C : Contrôle et vérification de l'appareil par un organisme agréé : l'APAVE (suivi par un technicien du laboratoire DEL/NP), carnet de maintenance</p> <p>C : affichage des consignes de sécurité APAVE + numéro de téléphone de l'organisme</p> <p>Remarque : affichage de la notice de fonctionnement + fiche d'historique des purges de l'appareil à réaliser tous les 20 jours</p>	<ul style="list-style-type: none"> ⇒ risque de manipulation : pour les personnes non habilitées ⇒ utilisation partagée avec d'autres laboratoires pouvant générer des risques : double usage décontamination / stérilisation ⇒ problème d'évacuation de la vapeur : incident entraînant décollement de la peinture ABSENCE DE VENTILATION + absence de hublot et porte à battant, 1 seule issue dans la pièce ⇒ absence de fiche historique des contrôles affichée près de l'appareil (traçabilité + information des autres membres du laboratoire) cf. suivi maintenance par 1 technicien du labo DEL/NP ⇒ absence signalisation de danger par rapport à une pression > 4 bars ⇒ appareil « vieillissant » ⇒ en cas de coupure de l'arrivée d'air comprimé des canalisations du Centre qui est injecté dans le joint de la porte et le circuit de refroidissement : quel scénario est envisageable ? ⇒ en cas de manipulation : nécessité « en théorie » de la présence permanente de l'agent (en pratique : passage tous les 10 minutes) + interdiction de lancement d'une opération de nuit
POMPE A GALETS	<ul style="list-style-type: none"> - appareil électrique, 220 volts (basse tension : entre 50 et 1000 volts) 	<p>C de l'installation électrique du Centre : dispositif différentiel dont la fonction est d'éliminer les courants de défaut à terre, associé à une prise de terre → protection des utilisateurs (disjoncteur)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ⇒ moteur ouvert sans protection NC : constitués intérieurement par des conducteurs électriques isolés et inaccessibles ? Existe-t-il un défaut d'isolement de l'appareil permettant au courant de circuler jusqu'au corps du manipulateur ? par contact direct ? par contact indirect (à l'aide d'un outillage quelconque)

	<ul style="list-style-type: none"> - appareil muni d'une fiche de courant raccordée à un câble d'alimentation comportant un contact de mise à la terre 	<p>C de l'installation électrique du Centre : mesure de la résistance des prises de terre réalisée par l'APAVE</p> <p>C : vérification annuelle de l'appareil par l'APAVE au niveau du câble de raccordement</p> <p>NC : absence de marquage CE (appareil datant de 1986)</p>	<p><u>Remarque</u> : le fait que l'appareil électrique soit relié à une prise de terre doit en principe permettre d'évacuer le courant circulant accidentellement dans la structure métallique de l'appareil.</p>
<p>HOTTES A FLUX LAMINAIRE (2 types de hottes utilisés dans le laboratoire S151)</p>	<p><u>N°1 : Hotte à flux laminaire horizontal</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - protection du produit par rapport à la contamination ambiante (à ne pas utiliser en cas de manipulation de produits dangereux, pathogènes ou volatils) - flux laminaire d'air filtré produisant une surpression par rapport à l'environnement ambiant : création d'une barrière qui empêche les particules extérieures d'entrer dans le volume de travail 	<p>C : maintenance</p> <ul style="list-style-type: none"> - changements des filtres absolus tous les 3 - 4 ans - changement des préfiltres tous les 3 mois <p>Contrôle annuel par ADS Laminaire de la conformité aux normes FEDERAL STANDARD 209 E</p> <p>C : rapport du 21/11/2000</p> <p>Remarque : utilisation pour la préparation des milieux et le repiquage des souches (ne correspondant pas à un PSM)</p>	<p>⇒ suivi vérification par un technicien du laboratoire</p>
	<p><u>N° 2 : Hotte à flux laminaire vertical</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - PSM de type II : poste de sécurité microbiologique - aspiration évitant tout risque de contamination vers l'extérieur (veine de garde) : PROTECTION DU MANIPULATEUR, protection de l'environnement et du produit manipulé 	<p>C : maintenance et contrôle : changements des filtres absolus tous les 3 - 4 ans</p> <p>Contrôle annuel par ADS Laminaire de la conformité aux normes FEDERAL STANDARD 209 E</p> <p>C : rapport du 21/11/2000</p>	<p>⇒ suivi vérification par un technicien du laboratoire</p>
<p>HOTTE ASPIRANTE (laverie : S167)</p>	<ul style="list-style-type: none"> - rejet vers l'extérieur : gaine verticale, ventilateur situé en terrasse, cheminée de rejet - aspiration de vapeurs 	<p>NC : absence de maintenance (contrôle de l'installation)</p> <p>NC : absence d'écran composé d'une ou plusieurs parois mobiles et transparentes cf. sorbonne classique</p>	<p>⇒ adaptation à la manipulation de produits chimiques et de cultures toxiques ?</p> <p>⇒ rejet extérieur : agents polluants dans l'air ? nécessité d'une épuration de l'air rejeté ?</p>
<p>SURPRESSEURS</p>	<ul style="list-style-type: none"> - surpresseurs : salles de culture S183 (salle bio réacteurs), S185 (salle ballons) 	<p>Contrôle annuel par ADS Laminaire de la conformité aux normes FEDERAL STANDARD 209 E</p> <p>=> rapport du 21/11/2000 :</p> <p>C : du surpresseur S183</p> <p>NC : du surpresseur S185 notifié dans le dernier rapport</p>	<p>⇒ recyclage air intérieur : en cas de fuite de CO₂ (salle S183), en cas de formation d'aérosols toxiques par bullage des cultures (S185, S183) => absence d'évacuation de l'air pollué</p> <p>⇒ suivi vérification par un technicien du laboratoire</p>

⇒ **AMENAGEMENT DES LOCAUX/CONDITIONS DE TRAVAIL**

Critères réglementaires :

- Voies de circulation internes dégagées
- Propreté des sols assurée
- Ventilation, Eclairage n'entraînant pas de nuisances physiques

▪ **Aménagement des lieux de travail**

Art R 232-1-14 du Code du travail

Les locaux de travail doivent être exempts de tout encombrement.

▪ **Aération**

Les locaux visés par la réglementation sont classés en 2 catégories :

- Locaux à pollution non spécifique : dans lesquels la pollution est liée à la seule présence humaine, à l'exception des locaux sanitaires
- Locaux à pollution spécifique : dans lesquels des substances dangereuses ou gênantes sont émises sous forme de gaz, vapeurs, aérosols solides ou liquides autres que celles qui sont liées à la seule présence humaine, locaux pouvant contenir des sources de micro-organismes potentiellement pathogènes et locaux sanitaires.

▪ **Seuils réglementaires : débit minimal d'air neuf par occupant (en m3/heure)**

- Locaux à pollution non spécifique : Art. R. 232-5-3 du Code du Travail - lorsque l'aération est assurée par des dispositifs de ventilation, le débit minimal d'air neuf à introduire par occupant est fixé comme suit :

Désignation des locaux	Débit minimal d'air neuf par occupant (en m3/heure)
Bureaux, locaux sans travail physique	25
Locaux de restauration, locaux de vente, locaux de réunion	30
Ateliers et locaux avec travail physique léger	45
Autres ateliers et locaux	60

- Locaux à pollution spécifique :

- ⇒ Art. R. 232-5-6 - la ventilation doit être réalisée et son débit déterminé en fonction de la nature et de la quantité des polluants sans que le débit minimal d'air neuf puisse être inférieur aux valeurs fixées à l'art R.232-5-3.
- ⇒ Art. R. 232-5-5 - les concentrations moyennes en poussières totales et alvéolaires de l'atmosphère inhalée par une personne, évaluées sur une période de huit heures, ne doivent pas dépasser respectivement 10 et 5 milligrammes par mètre cube d'air + obligation de respecter les prescriptions particulières fixant les valeurs limites réglementaires pour des substances telles que certains gaz, aérosols liquides ou vapeurs et pour des paramètres climatiques.

Désignation	Caractéristiques	Conformité réglementaire	Observations
Circulation	- présence de réfrigérateurs et congélateurs dans les couloirs	encombrement des couloirs	⇒ risques de collision ⇒ risques de chutes
Ventilation : salles de cultures (surpresseurs)	- recyclage air ambiant	Locaux à risques de pollution spécifique : nécessité respect des obligations des Art. R. 232-5-3 et R. 232-5-5	⇒ risques de fuite de CO ₂

⇒ **ENERGIE (salle de culture S183)**

Critères consignés du fournisseur : FDS, Fiche de données de sécurité N°018A

- attachement à point fixe à l'aide d'une chaîne métallique
- détection en cas de fuite de gaz prévue :
- isolement possible en cas de fuite
- conservation dans un endroit ventilé, à une température inférieure à 50°C

Désignation	Caractéristiques	Conformité réglementaire	Observations
Bouteille de dioxyde de carbone ou CO ₂ - 34 Kg - Air Liquide	<u>Propriété</u> gaz non détectable à l'odeur <u>Risques</u> - à haute concentration risque d'asphyxie (par réduction de la teneur en oxygène de l'air) <i>une concentration d'oxygène inférieure à 18% est dangereuse</i> ATTENTION la victime peut ne pas être prévenue (perte de connaissance) - faibles concentrations : maux de tête, accélération de la respiration	C : depuis le 06/03/2001 : attachement (installation d'une fixation murale) NC : salle de culture équipée d'un surpresseur : filtration et recyclage de l'air intérieur C : conservation dans salle à 16° C	⇒ absence de détecteur de CO ₂ en cas de fuite ⇒ absence de protocole en cas d'incident : isolement de la bouteille

⇒ PRODUITS DANGEREUX

Critères réglementaires :

Le Code du travail (Art. R. 231-51 - Décret no 92-1261 du 3-12-92) définit 15 catégories de danger pour les substances et préparations dangereuses.

Sont considérées comme « dangereuses » les catégories suivantes :

- Explosibles : solides, liquides, pâteuses ou gélatineuses qui, même sans intervention d'oxygène atmosphérique, peuvent présenter une réaction exothermique avec développement rapide de gaz et qui, dans des conditions d'essais déterminées, détonent, déflagrent rapidement ou, sous l'effet de la chaleur, explosent en cas de confinement partiel ;
- Comburantes : au contact d'autres substances, notamment inflammables, présentent une réaction fortement exothermique
- Extrêmement inflammables
- Facilement inflammables
- Inflammables
- Très toxiques : par inhalation, ingestion ou pénétration cutanée en très petites quantités, entraînent la mort ou des risques aigus ou chroniques ;
- Toxiques : par inhalation, ingestion ou pénétration cutanée en petites quantités, entraînent la mort ou des risques aigus ou chroniques ;
- Nocives : par inhalation, ingestion ou pénétration cutanée, peuvent entraîner la mort ou des risques aigus ou chroniques ;
- Corrosives : en contact avec des tissus vivants, peuvent exercer une action destructrice sur ces derniers ;
- Irritantes : par contact immédiat, prolongé ou répété avec la peau ou les muqueuses, peuvent provoquer une réaction inflammatoire ;
- Sensibilisantes : par inhalation ou pénétration cutanée, peuvent donner lieu à une réaction d'hypersensibilité telle qu'une exposition ultérieure à la substance ou à la préparation produit des effets indésirables caractéristiques ;
- Cancérogènes : par inhalation, ingestion ou pénétration cutanée, peuvent produire le cancer ou en augmenter la fréquence
- Mutagènes : par inhalation, ingestion ou pénétration cutanée, peuvent produire des défauts génétiques héréditaires ou en augmenter la fréquence
- Toxiques pour la reproduction : par inhalation, ingestion ou pénétration cutanée, peuvent produire ou augmenter la fréquence d'effets indésirables non héréditaires dans la progéniture ou porter atteinte aux fonctions ou capacités reproductives
- Dangereuses pour l'environnement

Le risque chimique recouvre l'ensemble des risques liés à la détention, la manipulation et l'emploi de produits dangereux. Sa prévention repose sur différentes règles :

• L'information sur les risques présentés par les produits

Art. R. 231-53 du Code du travail (Décret no 87-200 du 25-3-87)

- fourniture gratuite par les fabricants, importateurs ou vendeurs aux chefs d'établissement (...) utilisateurs de substances ou préparations dangereuses d'une **fiche de données de sécurité du produit concerné** datée au moment de la première livraison et, par la suite, après toute révision comportant de nouvelles informations significatives sur le produit, sur ses propriétés ou sur les précautions à prendre lors de sa manipulation,
- transmission par le chef d'établissement au médecin du travail des fiches précitées

• Fiche de poste de sécurité

Art. R. 231-54-5 (Décret no 92-1261 du 3-12-92)

- L'employeur est tenu d'établir une **notice pour chaque poste de travail exposant les travailleurs à des substances ou des préparations chimiques dangereuses** ; cette notice est destinée à les informer des risques auxquels leur travail peut les exposer et des dispositions prises pour les éviter.

• Formation des salariés exposés à l'utilisation de produits chimiques

Article L231-3-1 du Code du Travail

- Tout chef d'établissement est tenu d'organiser une formation pratique et appropriée en matière de sécurité, au bénéfice des travailleurs qu'il embauche, de ceux qui changent de poste de travail ou de technique








- contenu possible : reconnaissance des symboles de danger, lecture des étiquettes et des fiches de produits dangereux, utilisation des EPI, conduite à tenir en cas de blessure et en cas d'incident
- **Limitation de l'utilisation des substances ou préparations chimiques dangereuses Art. R. 231-54**
- **Equipements de travail adaptés**
Art. R. 231-54-2 Les emplacements de travail où sont utilisées les substances ou préparations chimiques dangereuses définies à l'article R. 231-51 doivent être équipés de moyens efficaces assurant l'évacuation des vapeurs, des gaz, des aérosols ou des poussières.
- **Mise à disposition d'appareils de protection individuelle**
Art. R. 231-54-4
 - Appareils adaptés aux risques encourus par les travailleurs susceptibles d'être exposés à l'action des substances ou des préparations chimiques dangereuses.
 - Equipement de moyens de protection corporelle adaptés aux risques encourus voire d'appareils de protection respiratoire isolants pour le personnel d'intervention ou de secours dont la présence est indispensable en cas de dispersion accidentelle dans les locaux de travail de substances ou de préparations chimiques dangereuses
- **Signalisation de sécurité**
Art. R. 231-54-8
 - signalisation à mettre en place dans les locaux de travail où sont utilisées des substances ou des préparations chimiques dangereuses, afin d'informer les travailleurs de l'existence d'un risque d'émissions accidentelles, dangereuses pour la santé.









Recommandations et conformités réglementaires :






- *accessibilité des fiches de sécurité des produits (fiches INRS, fiches fournisseurs FDS)*
- *connaissance des sigles de danger sur l'étiquetage des produits (annexe II de l'arrêté du 20 avril 1994)*
- *manipulations conformes aux prescriptions des fiches de sécurité et des règles de mélange des produits (manipulation sous hotte, port d'EPI...)*
- *existence de poubelles spécifiques pour les produits dangereux et d'absorbants en cas de déversement*
- *formation à la manipulation des produits chimiques dispensés à chaque membre du laboratoire*
- *respect des règles de transvasement : ne jamais transvaser de produits dangereux dans un emballage pour aliments ou pour boissons, étiqueter avec la même étiquette du conditionnement d'origine un produit transvasé dans un récipient de plus petite contenance*
- *stockage des produits : le stockage en laboratoire ne doit assurer que le stockage « tampon » (besoins à court terme), éviter le stockage sur les tablettes de décharge des paillasse (étagères), proscrire le stockage sur paillasse, (rangement chaque soir à effectuer des produits utilisés dans les enceintes correspondantes, stockage temporaire possible sous les hottes de produits en cours d'utilisation*
- ⇒ *respect des règles de séparation des produits incompatibles*
 - *toxiques et des poisons dans une enceinte fermée à clef pour en réserver l'accès aux personnes habilitées,*
 - *stockage et regroupement des liquides inflammables dans des enceintes ventilées,*
 - *stockage des produits explosifs à part dans des locaux ou armoires spécifiques, à l'écart des matières combustibles en priorité des produits inflammables,*
 - *séparation des acides et des bases concentrées*
- ⇒ *élimination régulière des produits périmés ou inutilisés (durée excessive de stockage générateur de dégradation, évolution du produit)*
- ⇒ *dispositions des produits stockés sur les rayonnages des enceintes de stockage de manière à permettre une lecture immédiate de l'étiquette*
- ⇒ *tenue à jour de l'état du stock*
- *aires de stockage et zones de danger : signalées, fermées ou limitées d'accès (signalisation réglementaire cf. arrêté du 4 novembre 1993)*



Annexe II - Arrêté du 20 avril 1994






Désignation	Propriétés	Observations
Titriplex III acide éthylène dinitrilotétraacétique EDTA solide  Xn- Nocif	<u>RISQUES</u> - nocif en cas d'ingestion - combustible : en cas d'incendie, risque de formation de gaz de combustion ou de vapeurs dangereuses <u>Stockage :</u> Armoire ne contenant pas de produits inflammables <u>Manipulation</u> - Eviter l'inhalation des poussières en cas de dispersion - Ne pas rejeter à l'égout <u>Moyens de protection</u> Protection des yeux et des mains nécessaire	- stock armoire en fer près du laboratoire S151 (flacon de 250g) - code produit : N°108418 - MERCK
Acide borique solide	<u>RISQUES</u> Produit n'étant pas considéré comme très dangereux mais nécessité mesures suivantes : <u>Stockage :</u> enceinte sans source de chaleur <u>Manipulation</u> - éviter le contact du produit avec la peau et les yeux - éviter l'exposition pour les femmes enceintes et personnes souffrant d'une maladie respiratoire	- stock armoire en fer près du laboratoire S151 (flacon de 500 g) - code produit : N°10165 - MERCK
Chlorure ferrique solide	RAS	- stock armoire en fer près du laboratoire S151 (flacon de 500 g)
Sulfate de manganèse solide	RAS	- stock armoire en fer près du laboratoire S151 (flacon de 1 kg)
Sulfate de zinc (99,5%) solide   Xi- Irritant N- Dangereux pour l'environnement	<u>RISQUES</u> - irritant pour les yeux et la peau - dangereux pour l'environnement <u>Stockage :</u> non combustible <u>Manipulation</u> - Eviter l'inhalation des poussières en cas de dispersion - Ne pas rejeter à l'égout <u>Moyens de protection</u> Protection des yeux et des mains nécessaire	- stock armoire en fer près du laboratoire S151 (flacon de 1 kg) - code produit : N°108883 - MERCK
Sulfate de cobalt (99%) solide   Xi- Irritant T- Toxique	<u>RISQUES</u> - nocif en cas d'ingestion - action cancérigène probable chez l'homme - irritant pour les yeux et la peau <u>Stockage :</u> non combustible, stockage sous clef <u>Manipulation</u> - Ne pas inhaler la substance - Ne pas rejeter à l'égout : déchet dangereux - TRAVAILLER SOUS UNE HOTTE <u>Moyens de protection</u> Protection des yeux et des mains nécessaire	- stock armoire en fer près du laboratoire S151 non fermée à clef (flacon de 100 g) - code produit : N°102556 - MERCK
Sulfate de cuivre (99%) solide   Xn- Nocif N- Dangereux pour l'environnement	<u>RISQUES</u> - nocif en cas d'ingestion - irritant pour les yeux et la peau - dangereux pour l'environnement <u>Stockage :</u> non combustible <u>Manipulation</u> - Ne pas inhaler la substance - Ne pas rejeter à l'égout <u>Moyens de protection</u> Protection des yeux et des mains nécessaire	- stock armoire en fer près du laboratoire S151 (flacon de 1kg) - code produit : N°102790 - MERCK

<p>Nitrate de sodium <i>solide</i></p>   <p>O- Comburant Xn- Nocif</p>	<p>RISQUES</p> <ul style="list-style-type: none"> - comburant (le produit active la combustion d'un produit inflammable) - nocif en cas d'ingestion - irritant pour les yeux et la peau <p>Stockage : à l'écart des substances combustibles, à l'écart de source de chaleur</p> <p>Manipulation</p> <ul style="list-style-type: none"> - Ne pas inhaler la substance - Ne pas fumer - Ne pas rejeter à l'égout <p>Moyens de protection</p> <p>Protection des yeux et des mains nécessaire</p>	<p>- stock armoire en fer près du laboratoire S151 (flacon de 500 g)</p> <p>- code produit : N°106537 - MERCK</p>
<p>Sodium glycéro-phosphate <i>solide</i></p>	<p>RAS</p>	<p>- stock armoire en fer près du laboratoire S151 (flacon de 1 kg)</p>
<p>TRIS(hydroxyméthyl-aminométhane) (99%) <i>solide</i></p>  <p>Xi- Irritant</p>	<p>RISQUES</p> <ul style="list-style-type: none"> - irritant pour les yeux et la peau <p>Stockage : combustible, froid (+2°C à +8°C)</p> <p>Manipulation</p> <ul style="list-style-type: none"> - Eviter le contact avec la substance - Ne pas inhaler la poussière - Ne pas rejeter à l'égout <p>Moyens de protection</p> <p>Protection des yeux et des mains nécessaire</p>	<p>- stock armoire en fer près du laboratoire S151 (flacon de 1 kg)</p> <p>- code produit : N°108382 - MERCK</p>
<p>Acide chlorhydrique fumant (HCl) (37%) <i>liquide</i></p>  <p>C- Corrosif</p>	<p>RISQUES</p> <ul style="list-style-type: none"> - irritant pour les voies respiratoires - brûlures <p>Stockage : non combustible, dans un endroit ventilé</p> <p>Manipulation</p> <ul style="list-style-type: none"> - Ne pas inhaler les vapeurs/aérosols - Ne pas rejeter à l'égout <p>Moyens de protection : protection des yeux et des mains nécessaire, vêtement résistant aux acides</p>	<p>- stock : laverie sur la tablette de décharge de la paillasse (étagère)</p> <p>- code produit : N°100317 - MERCK</p>
<p>Chlorure de cobalt <i>Solide</i></p>   <p>Xi- Irritant N- Dangereux pour l'environnement</p>	<p>RISQUES</p> <ul style="list-style-type: none"> - nocif en cas d'ingestion - irritant pour les yeux et la peau - dangereux pour l'environnement <p>Stockage : non combustible, dans un endroit ventilé</p> <p>Manipulation</p> <ul style="list-style-type: none"> - Eviter l'inhalation - TRAVAILLER SOUS UNE HOTTE - Ne pas rejeter à l'égout <p>Moyens de protection</p> <p>Protection des yeux et des mains nécessaire</p>	<p>- stock armoire en fer près du laboratoire S151 (flacon de 25g)</p> <p>- code produit : N°1740- LABOSI</p>
<p>Chlorure de manganèse <i>Solide</i></p>	<p>RISQUES : nocif en cas d'ingestion</p> <p>Stockage : non combustible</p> <p>Manipulation : ne pas rejeter à l'égout</p> <p>Moyens de protection : des yeux et des mains</p>	<p>- stock armoire en fer près du laboratoire S151 (flacon de 1Kg)</p> <p>- code produit : N°25222-29 PROLABO</p>
<p>Acide peracétique DEPTIL PA 5</p>   <p>O- Comburant C- Corrosif</p> <p><i>liquide</i></p> <p>5% à 10% d'acide peracétique</p> <p>5% à 20% de peroxyde d'hydrogène</p>	<p>RISQUES</p> <ul style="list-style-type: none"> - brûlures - en cas d'inhalation : inflammation sévère - contact avec les yeux : risques de lésions de la cornée - comburant <p>Stockage : endroit frais, à l'écart des matières combustibles</p> <p>Manipulation</p> <ul style="list-style-type: none"> - ATTENTION : ne pas mélanger ou mettre en contact avec d'autres produits dangereux - Ne pas rejeter à l'égout - TRAVAILLER DANS UN MILIEU AERE <p>Moyens de protection</p> <p>Port de lunettes de sécurité, gants et tablier de protection</p>	<p>- stock : salle au sous-sol S 997 (pièce fraîche) (Bidon 24 Kg)</p> <p>NC : absence de fiche de sécurité au local de stockage</p>

<p>Extrait d'eau de javel <i>liquide</i></p>  <p>C- Corrosif</p>	<p>extrait de javel (48°chlorométrique hypochlorite de sodium, solution de 12,5 % Cl actif)</p> <p><u>RISQUES</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ⇒ brûlures ⇒ corrosif ⇒ ATTENTION AU MELANGE : au contact d'un acide dégagement de gaz toxique <p><u>Stockage</u> : au frais à l'abri du soleil et de la lumière, à l'écart des acides et de l'ammoniaque</p> <p><u>Manipulation</u> :</p> <ul style="list-style-type: none"> - à diluer dans ¾ de litre d'eau pour obtenir 1 litre d'eau de javel à 12° chlorométrique, à utiliser dans un délai de 3 mois - ne pas rejeter à l'égout des quantités importantes <p><u>Moyens de protection</u> Port de gants et lunettes de protection</p>	<p>NC : absence de fiche de sécurité au poste de travail (gestion contact fournisseur Service Logistique et technique)</p> <p>Stock : armoire dans le couloir près de la laverie + sous-sol</p>
<p>Acide chlorhydrique <i>liquide</i></p>  <p>C- Corrosif</p>	<p>Acide technique 32-33%</p> <p><u>RISQUES</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ⇒ Corrosif ⇒ irritant pour les voies respiratoires, la peau <p><u>Stockage</u> : endroit frais, ventilé</p> <p><u>Manipulation</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - TRAVAILLER SOUS UNE HOTTE - ne pas rejeter à l'égout <p><u>Moyens de protection</u> Port de gants</p>	<p>NC : absence de fiche de sécurité au poste de travail</p> <p>NC : stockage sur la tablette de décharge de la paillasse (étagère)</p> <p>Fournisseur LABOGROS</p>
<p>TFD4 <i>Liquide</i></p>  <p>C- Corrosif</p>	<p>Contient de l'hydroxyde de potassium libre concentration < 5%</p> <p>Décontaminant</p> <p><u>RISQUES</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ⇒ brûlures ⇒ corrosif ⇒ irritant pour les yeux et la peau <p><u>Stockage</u> : RAS</p> <p><u>Manipulation</u> Ne pas jeter aux égouts</p> <p><u>Moyens de protection</u> Port de gants et de lunettes de protection</p>	<p>C : fiche de sécurité au poste (gestion du contact fournisseur en direct par l'aide de laboratoire utilisateur du produit dans le laboratoire : FRANKLAB)</p> <p>Stock : sous l'évier salle laverie S167</p>
<p>TFD Poudre <i>Solide</i></p>  <p>C- Corrosif</p>	<p>Détergent alcalin</p> <p><u>RISQUES</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ⇒ irritant pour les yeux et la peau ⇒ corrosif <p><u>Stock</u> : à l'abri des acides forts</p> <p><u>Manipulation</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - Irritation possible des voies respiratoires par la formation de poussière - Ne pas jeter aux égouts sous forme concentrée <p><u>Moyens de protection</u> Port de gants et de lunettes de protection</p>	<p>C : fiche de sécurité au poste (gestion du contact fournisseur en direct par l'aide technicien utilisateur du produit dans le laboratoire : FRANKLAB)</p> <p>Stock : salle autolaveur</p>
<p>Neutrax PF <i>Liquide</i></p>  <p>Ki- Irritant</p>	<p>Liquide de rinçage acide Acide acétique – concentration < 25%</p> <p><u>RISQUES</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ⇒ irritant pour les yeux et la peau <p><u>Manipulation</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - ne pas jeter aux égouts sous forme concentrée - ne pas mélanger le produit pur avec des solutions alcalines <p><u>Moyens de protection</u> Port de gants et de lunettes de protection</p>	<p>C : fiche de sécurité au poste (gestion du contact fournisseur en direct par l'aide technicien utilisateur du produit dans le laboratoire : FRANKLAB)</p> <p>Stock : salle autolaveur</p>

<p>Ethanol <i>Liquide</i></p>  <p>F- Facilement inflammable</p>	<p>Ethanol 95-96%</p> <p><u>RISQUES</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - facilement inflammable - peut exploser sous forme de vapeurs/gaz avec l'air <p><u>Stockage :</u> A l'écart de toute flamme ou source d'étincelles Dans un endroit ventilé, à température ambiante</p> <p><u>Manipulation</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - ne pas inhaler les vapeurs - ne pas rejeter à l'égout - tenir à l'écart des sources d'ignition - éviter l'accumulation de charges électrostatiques - ne pas fumer <p><u>Moyens de protection</u> Protection des yeux et des mains nécessaire</p>	<p>NC : stockage sur la tablette de décharge de la paillasse (étagère)</p> <p>(flacon en verre 1 l)</p> <p>- code produit : N°20823.293 PROLABO</p>
<p>Acétone <i>Liquide</i></p>  <p>F- Facilement inflammable</p>	<p><u>RISQUES</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - facilement inflammable <p><u>Stockage :</u> A l'écart de toute flamme ou source d'étincelle Dans un endroit ventilé</p> <p><u>Manipulation</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - ne pas inhaler les vapeurs - tenir à l'écart des sources d'ignition - éviter l'accumulation de charges électrostatiques - ne pas fumer <p><u>Moyens de protection</u> Protection des yeux et des mains nécessaire</p>	<p>NC : stockage sur la tablette de décharge de la paillasse (étagère)</p> <p>(flacon en verre 2,5 l)</p> <p>- code produit : N°10003 ANALAR</p>

Désignation	Propriétés	Observations
LUGOL préparation => réalisation interne,		
100 g de KI ou Iodure de potassium	Produit non réglementé <u>Moyens de protection</u> Protection des yeux et des mains nécessaire	NC : pas d'étiquetage dangereux et composition indiquée
<p>50g d'Iode</p>   <p>Xn- Nocif N- Dangereux pour l'environnement</p>	<p><u>RISQUES</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - nocif par inhalation et contact avec la peau - dangereux pour l'environnement <p><u>Stockage :</u> non combustible, endroit ventilé</p> <p><u>Manipulation</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - ne pas inhaler les vapeurs/aérosols - ne pas rejeter à l'égout <p><u>Moyens de protection</u> Protection des yeux et des mains nécessaire</p>	<p>(durée d'utilisation d'1 litre : 4 ans environ)</p>
<p>100ml d'Acide Acétique glacial (100%)</p>  <p>C- Corrosif</p>	<p><u>RISQUES</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - GRAVES BRULURES - inflammable <p><u>Stockage :</u> A l'écart de source d'ignition Dans un endroit ventilé</p> <p><u>Manipulation</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - ne pas inhaler les vapeurs - tenir à l'écart des sources d'ignition - éviter l'accumulation de charges électrostatiques - locaux ventilés, sous hotte - incompatibilité avec certains métaux <p><u>Moyens de protection</u> Protection des yeux et des mains nécessaire</p>	

⇒ **VERRERIE**

Critères réglementaires :

- Transports des récipients en verre dans des paniers anti-chocs
- Déchets : nécessité d'une boîte spéciale pour la récupération de la verrerie cassée

Désignation	Caractéristiques	Conformité réglementaire	Observations
Pipette Pasteur	En verre	C : déchets autorisés dans containers spécifiques verre de la Ville de Nantes	- entreposage dans laboratoire dans bouteilles de produits chimiques vides et préalablement lavées
Ballons	En pyrex	C : déchets en pyrex interdits dans containers spécifiques verre de la Ville de Nantes	

B- Grille de cotation

Critères d'évaluation qualitatifs

Gravité	G	Définition : gravité des conséquences sur la personne
INSIGNIFIANT	1	<i>Conséquences corporelles bénignes (blessures légères, soins)</i>
MINEUR	2	<i>Effets réversibles après arrêt de travail</i>
SEVERE	3	<i>Effets irréversibles et handicapants</i>
GRAVE	4	<i>Blessures mortelles</i>

Probabilité d'exposition	P	Définition : contact d'une personne avec le danger
TRES IMPROBABLE	1	<i>Extrêmement difficile</i>
PEU PROBABLE	2	<i>Difficile</i>
POSSIBLE	3	<i>Assez facile : contact possible mais occasionnel</i>
TOUT A FAIT POSSIBLE	4	<i>Très facile : possible et habituel</i>

Pondération	X 2 en cas d'exposition de plusieurs personnes
-------------	------------------------------------------------



CHIFFRE DU RISQUE : $R = G \times P$

Résultat	Evaluation du risque
$1 \leq R < 5$	PEU IMPORTANT
$6 \leq R \leq 8$	ASSEZ IMPORTANT
$9 \leq R < 15$	IMPORTANT
$R \geq 16$	TRES IMPORTANT

4.2. Hiérarchisation des risques et préconisations de mesures préventives

Objectif : évaluer et de hiérarchiser les risques professionnels dans le cadre de la culture d'algues toxiques, ET PROPOSER DES MESURES DE PREVENTION pour minimiser ou supprimer les risques identifiés : mesures collectives, mesures de protection individuelle, organisation du travail, rédaction de consignes de sécurité...

Les résultats présentés sont issus de l'évaluation collective des membres du laboratoire réalisée lors de deux réunions, à partir de fiches outils d'analyse de risques pré-remplies. Cette évaluation collective peut être complétée par des remarques notifiées en fin de fiches, remarques propres au rédacteur de ce rapport.

Fiche outil N°1 : ANALYSE DE RISQUES

ETAPE : CULTURE BALLONS 1- PREPARATION DES SOLUTIONS MERES

Localisation : Laboratoire S151, Salle de culture S185

Acteur(s) concerné(s) : Technicien, responsable de cultures

Sources de risques	Dangers détectés	Personnes exposées	Evaluation		Chiffre du risque	Mesures préconisées
			G	P		
Manipulation de produits chimiques nocifs, toxiques, corrosifs	<ul style="list-style-type: none"> - inhalation de vapeurs - contact avec la peau ou les yeux de la substance par déversement par projection : brûlures, irritations 	Technicien Agent dont le bureau correspond à la salle où est entreposée la balance (S161)	Mineur 2	Possible 3	(6 X 2) 12 IMPORTANT	<ul style="list-style-type: none"> - manipulation sous hotte impossible (formation de poussières, imprécision de la pesée) : solution → placement de la balance dans une salle dédiée à cet effet et uniquement réservé à son usage - création d'une fiche de consignes : conditions requises pour la pesée, conduite à tenir en cas de déversement du produit - port de gants, de lunettes de protection obligatoire, masque adapté au produit manipulé
Stockage des produits chimiques : armoire située dans le couloir non fermée à clef, accessible à tous	<ul style="list-style-type: none"> - incident causé par une personne non formée au mode d'utilisation des produits 	Toute personne	Insigni. 1	Peu probable 2	2 PEU IMPORTANT	<ul style="list-style-type: none"> - fermeture à clef de l'armoire : limitation de l'accès aux personnes « habilitées » à l'utilisation des produits
Stockage des produits chimiques (armoire) : déversement de produits	<ul style="list-style-type: none"> - mélanges nocifs 	Toute personne	Insigni. 1	Peu probable 2	2 PEU IMPORTANT	<ul style="list-style-type: none"> - classement par famille et équipement pour chacune de bac de rétention
Transport des ballons, introduction/enlèvement de l'autoclave : chute du ballon, glissement des mains	<ul style="list-style-type: none"> - coupures - brûlures 	Technicien	Mineur 2	Peu probable 2	4 PEU IMPORTANT	<ul style="list-style-type: none"> - protection individuelle à utiliser : gants antidérapants, lunette - manipulation uniquement par les personnes habilitées - respect du temps de refroidissement du ballon impératif

<p>Configuration de la salle dans lequel se trouve l'autoclave :</p> <ul style="list-style-type: none"> - 1 seule porte dans la pièce, - absence de système d'évacuation de la vapeur produite accidentellement par l'appareil 	<p>Accident du à la pression de vapeur : blocage de la porte, enfermement d'un agent ...</p>	<p>Technicien</p>	<p>Sévère</p> <p>3</p>	<p>Très improbable</p> <p>1</p>	<p>3</p> <p>PEU IMPORTANT</p>	<ul style="list-style-type: none"> - installation d'un système d'arrêt d'urgence à l'extérieur de la salle - affichage sur la porte : utilisation uniquement par le personnel habilité - aménagement : porte à remplacer par une porte à battant munie d'un oculus résistant à la déflagration - appareil vieillissant à remplacer (+ double usage actuel, décontamination et stérilisation → nécessité de 2 autoclaves dédiés chacun à l'un des usages)
<p>Oubli de règles d'utilisation de l'autoclave</p>	<p>Erreur de manipulation</p>	<p>Toute personne habilitée à la conduite d'autoclave</p>	<p>Insigni.</p> <p>1</p>	<p>Peu probable</p> <p>2</p>	<p>2</p> <p>PEU IMPORTANT</p>	<ul style="list-style-type: none"> - formation des utilisateurs : prévoir un recyclage régulier (périodicité à définir avec les utilisateurs) - fiche consignes de sécurité à créer (affichage visible près de l'appareil)

REMARQUES

- manipulation de produits chimiques → existence de bac de rétention pour les petits conditionnements : caillebotis mobiles
- Absence de tenue d'un état des stocks des produits chimiques entreposés dans le laboratoire :
 - conservation de produits périmés : dégradation, évolution non maîtrisée car inconnue
 - en cas d'incident ou d'accident dans le Centre nécessitant l'intervention des pompiers : absence de connaissance de l'état des stocks pour informer ces derniers afin qu'ils puissent mesurer les risques encourus.

→ Préconisations :

- création d'une **fiche de recensement des produits pour chaque lieu de stockage** (armoire N°... située dans la salle N°..., le couloir...): préciser le nom du produit, les propriétés du produit (explosifs, comburants, inflammables, toxiques, nocifs, irritants...), l'état physique du produit (liquide, solide...), les quantités stockées, les dates de réception et d'ouverture des produits, suivi des dates de péremption et des flux (entrants et sortants) + archivage des fiches de données de sécurité accessible à tous les acteurs
- inscription sur les emballages des produits des dates prévues d'élimination : pour garantir leur conservation suivant la durée requise et préconisée par le fournisseur
- limitation du stock tampon dans le laboratoire à des produits couramment utilisés (privilégier le stockage dans le local de produits chimiques)
- Préconisation concernant l'autoclave : affichage et réalisation d'une procédure d'urgence en cas de problème de pression + affichage d'un panneau « danger si pression supérieure à 4 bars »

Fiche outil N°2 : ANALYSE DE RISQUES

ETAPE : CULTURE BALLONS 2- FINALISATION PREPARATION DES MILIEUX ET MISE EN CULTURE

Localisation : laboratoire S151

Acteur(s) concerné(s) : Technicien, responsable de cultures

Sources de risques	Dangers détectés	Personnes exposées	Evaluation		Chiffre du risque	Mesures préconisées
			G	P		
Manipulation sous une hotte à flux laminaire HORIZONTAL d'agents biologiques toxiques : hotte ne correspondant pas à un poste de sécurité	Contamination par voie aérienne : inhalation d'aérosols formés lors des manipulations (ouverture de récipients contenant les cultures, ensemencement...)	Technicien	Insigni. 1	Très improb. 1	1 PEU IMPORTANT	<i>EN CAS D'UTILISATION DE SOUCHES TRES TOXIQUES :</i> - élaboration d'un protocole de manipulation - utilisation de la hotte à flux laminaire VERTICAL (poste de sécurité biologique) (mesures considérées par les acteurs comme inutiles pour la manipulation des espèces actuellement cultivées)
Maintenance des hottes à flux laminaire, horizontal et vertical : remplacement des filtres non effectué	Incident de gestion des pannes en cas d'absence du technicien suivant la maintenance	Autre membre du laboratoire	Insigni. 1	Très improb. 1	1 PEU IMPORTANT	- suivi de la maintenance des hottes : accessibilité des informations à tous les acteurs du laboratoire, à tenir à disposition par le technicien responsable du suivi → affichage d'une fiche historique précisant les dates de changement des pré filtres et filtres + les dates planifiées des prochaines opérations
Déversement sur le plan de travail de la hotte à flux laminaire d'agents biologiques toxiques	Rejet dans les eaux usées après récupération (risque de contamination du milieu naturel suite cf. suivi de la chaîne de traitement des eaux résiduaires)	Toute personne extérieure au Centre	Insigni. 1	Très improb. 1	1 PEU IMPORTANT	- suivre la procédure de destruction à l'eau de javel cf. poste laverie - port de gants - désinfection systématique du plan de travail après utilisation (produit : Ethanol 95%) : mesure actuelle
Stockage de souches accessibles à toute personne <u>Armoire Thermostatée</u> sans système de fermeture spécifique, sans signalisation de danger biologique <u>Salle de culture : S185</u> sans système de limitation d'accès et sans signalisation de danger biologique	Contamination par des agents biologiques toxiques	Toute personne circulant dans le bâtiment scientifique	Mineur 2	Très improb. 1	2 PEU IMPORTANT	- installation d'un système de fermeture de l'armoire thermostatée - tenue d'une liste des produits stockés et mention de la personne responsable - traçabilité des souches : instauration d'un registre précisant la provenance des souches et les échanges avec d'autres organismes

						- installation d'un panneau de signalisation réglementaire « entrée interdite aux personnes non autorisées » à l'entrée des salles de culture et sur chaque porte des salles de culture, un panneau « cultures d'algues toxiques » (information dissuasive et préventive)
--	--	--	--	--	--	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Notes collectives complémentaires à l'évaluation

En cas de manipulation de souches considérées comme dangereuses (très toxiques), les bouchons en cellulose utilisés n'étant pas hermétiques, peuvent entraîner la libération d'agents toxiques avec un risque de contamination par voie aérienne : inhalation d'aérosols.

→ Préconisation : emploi de bouchons en silicone actuellement utilisés pour la culture en bio réacteurs.

Un achat global pour les deux modes de culture permettra une réduction significative des coûts grâce à un accroissement des quantités commandées.

REMARQUES

Lors de la phase d'introduction des souches, la contamination par voie cutanée des agents biologiques manipulés (toxines) en cas de coupure est considérée comme impossible par les acteurs concernés.

Fiche outil N°3 : ANALYSE DE RISQUES

ETAPE : CULTURE BALLONS 3²- CULTURE EN MASSE

Localisation : Laboratoire S151

Acteur(s) concerné(s)¹ : Technicien, responsable de cultures

Sources de risques	Dangers détectés	Personnes exposées	Evaluation		Chiffre du risque	Mesures préconisées
			G	P		
Absence de désinfection de la cellule de comptage et de la lamelle	Résidus de petites quantités d'agents biologiques toxiques rejetés dans les eaux usées (risque de contamination du milieu naturel suite cf. chaîne de traitement des eaux résiduaires)	Toute personne extérieure au Centre	Insignif 1	Très improbable 1	(1 X 2) 2 PEU IMPORTANT	- nettoyage à l'eau distillée au-dessus d'un bécber pour récupérer les eaux de rinçage qui seront ensuite « chlorées » avant d'être rejetées à l'égout
Manipulation sous la hotte à flux laminaire horizontal d'agents biologiques toxiques lors du comptage des cellules	Risque de déversement sur le plan de travail puis rejet dans les eaux usées (cf. ci-dessus)	Toute personne extérieure au Centre	Insignif 1	Très improbable 1	(1 X 2) 2 PEU IMPORTANT	- prévoir un absorbant et la désinfection du plan de travail en fin de manipulation
Elaboration d'une préparation contenant des substances dangereuses (Iugol)	Inhalation, projection dans les yeux, sur les mains	Technicien	Mineur 2	Possible 3	6 ASSEZ IMPORTANT	- manipulation sous une hotte CHIMIQUE située en salle S155 - port de gants, de lunettes de protection obligatoire
Absence d'étiquetage «préparation dangereuse» du LUGOL	Risque de manipulation pour les personnes non informées de la composition du produit	Toute personne utilisatrice	Insignif 1	Très improbable 1	1 PEU IMPORTANT	- Etiquetage précisant la composition de la préparation et les dangers encourus (pictogrammes réglementaires)

Fiche outil N°4 : ANALYSE DE RISQUES

ETAPE : CULTURE BIO REACTEURS

1- PREPARATION DES MILIEUX DE CULTURE 2- MISE EN CULTURE

Localisation : Laboratoire S151, Salle de culture S185

Acteur(s) concerné(s)¹ : Technicien

REMARQUES

- se reporter aux fiches N°1 et N°2
- préconisation : planifier une formation de conduite d'autoclave pour le technicien acteur de cette séquence de travail

Fiche outil N°5 : ANALYSE DE RISQUES

ETAPE : CULTURE BIO REACTEURS 3-4- NETTOYAGE DES BIO REACTEURS

Localisation : Salle S997, Laboratoire S151, Salle de cultures S183

Acteur(s) concerné(s) ¹ : Responsable de projet *ou* *coordonnateur technique, stagiaire*

Sources de risques	Dangers détectés	Personnes exposées	Evaluation		Chiffre du risque	Mesures préconisées
			G	P		
Manipulation d'une solution d'acide peracétique, substance comburante et corrosive	Salle de stockage non ventilée, fuite du bec verseur du bidon de 24 l : irritation des voies respiratoires	Responsable de projet <i>ou</i> <i>coordonnateur technique, stagiaire</i>	Mineur 2	Possible 3	6 ASSEZ IMPORTANT	<ul style="list-style-type: none"> - placement dans un local ventilé et changement du bec verseur par un système totalement hermétique - port d'EPI obligatoire : masque de respiration autonome (dans la configuration actuelle), gants, blouse et tablier de protection - affichage de consignes d'utilisation sur la porte d'entrée
Stockage d'un acide comburant (acide peracétique) dans une salle dépourvue d'une signalisation de danger	Risque d'incendie en cas d'apport d'une source d'ignition par une personne	Tout agent utilisant ce produit + personnes travaillant à proximité	Sévère 3	Possible 3	(9 X 2) 18 TRES IMPORTANT	<ul style="list-style-type: none"> - signalisation réglementaire « DANGER » + « interdiction de fumer » - vérifier la date de péremption du produit (laboratoire gérant actuellement l'achat du produit : VP-PBA)
Transvasement d'une solution dangereuse à l'aide d'une pompe électrique à galet	Risque de projection lors de l'opération de transvasement (problème de gestion de la pression) : brûlures...	Responsable de projet <i>ou</i> <i>coordonnateur technique, stagiaire</i>	Mineur 2	Possible 3	6 ASSEZ IMPORTANT	<ul style="list-style-type: none"> - port d'EPI : lunettes, gants et blouse - notice et consignes d'utilisation à entreposer avec l'appareil : information des utilisateurs (surtout des nouveaux utilisateurs : stagiaires, nouveaux recrutés)
Utilisation d'un appareil électrique dont le moteur ne présente pas de protection	Risque électrique Possibilité de défaut d'isolement de l'appareil permettant au courant de circuler jusqu'au corps humain du manipulateur	Toute personne du laboratoire utilisant cet appareil	Grave 4	Possible 3	12 IMPORTANT	<ul style="list-style-type: none"> - vérification de la conformité électrique de l'appareil - envisager son remplacement par un appareil non-conducteur (pompe pneumatique utilisant le réseau d'air comprimé du Centre) - maintien des sols propres et secs - maintenance à assurer par personnel technique compétent
Chute des ballons en pyrex utilisés pour le transvasement (contenant une solution d'acide peracétique)	Coupures Risque de projection de la solution	Responsable de projet <i>ou</i> <i>coordonnateur technique, stagiaire</i>	Mineur 2	Possible 3	6 ASSEZ IMPORTANT	<ul style="list-style-type: none"> - port d'EPI : gants, blouse, lunette - système de calage des ballons sur le chariot

Fiche outil N°6 : ANALYSE DE RISQUES

ETAPE : CULTURE BIO REACTEURS 5- INTRODUCTION DES MILIEUX ET DES SOUCHES

Localisation : Salle de cultures S183

Acteur(s) concerné(s)¹ : Responsable de projet *ou* coordonnateur technique, stagiaire

Sources de risques	Dangers détectés	Personnes exposées	Evaluation		Chiffre du risque	Mesures préconisées
			G	P		
Risque de projection, de contact avec l'agent biologique toxique lors de l'opération de transvasement	Contact avec l'agent biologique par voie cutanée, muqueuses ... : contamination, réaction	Responsable de projet <i>ou</i> coordonnateur technique, stagiaire	Insigni. 1	Possible 3	3 PEU IMPORTANT	- port d'EPI : lunettes, gants, blouse et masque de protection buccale

Fiche outil N°7 : ANALYSE DE RISQUES (en complément fiche outil N°3)

ETAPE : BIO REACTEURS 6- CULTURE

Localisation : Laboratoire S151, Bureau S129

Acteur(s) concerné(s)¹ : Technicien

Sources de risques	Dangers détectés	Personnes exposées	Evaluation		Chiffre du risque	Mesures préconisées
			G	P		
Entreposage d'une bouteille de CO ₂ : gaz dangereux, non détectable à l'odeur	- Fuite de gaz : asphyxie - Risque de chute de la bouteille	Agents manipulateurs (Responsable de projet <i>ou</i> coordonnateur technique)	Grave 4	Possible 3	(12 X 2) 24 TRES IMPORTANT	- installation d'un détecteur et d'une alarme sonore et visuelle à l'extérieur des salles de culture et si possible à l'intérieur de la salle S183 - mesures de précaution à prendre : contrôler la teneur en oxygène dans la salle de culture, si elle est inférieure à 18%, port d'un masque autonome pour pénétrer dans la zone en cas de fuite détectée - mise à disposition dans le sas d'entrée des salles de culture d'un masque de respiration autonome avec affichage des consignes d'utilisation - signalisation sur la porte du sas d'une zone à risque et consignes de sécurité cf. mesures de précaution - instauration d'un code couleur pour identifier le tuyau d'arrivée de CO ₂ (lors de la manipulation de la bouteille) - veille à l'attachement permanent de la bouteille au support mural installé

REMARQUES

→ Préconisation : rédaction d'un protocole d'urgence précisant la conduite à adopter en cas d'incident majeur (isolement de la bouteille de CO₂, enceinte de confinement...)

Fiche outil N°8 : ANALYSE DE RISQUES

ETAPE : **NETTOYAGE** Destruction des cultures et nettoyage des ballons

Localisation : Laverie S167.

Acteur(s) concerné(s)¹ : Aide de laboratoire

Sources de risques	Dangers détectés	Personnes exposées	Evaluation		Chiffre du risque	Mesures préconisées
			G	P		
Utilisation de produits chimiques corrosifs : extrait d'eau de javel, TFD4	Brûlures, projection dans les yeux, sur la peau	Aide de laboratoire	Sévère 3	Possible 3	9 IMPORTANT	<ul style="list-style-type: none"> - Port de gants, lunettes de protection - Formation aux risques chimiques (produits, règles de mélange...) - archivage au poste de l'ensemble des fiches de sécurité des produits utilisés
Mélange de substances dangereuses : eau de javel et acide	Formation d'un gaz toxique (chlore gazeux) pouvant entraîner des lésions pulmonaires	Aide de laboratoire	Mineur 2	Possible 3	6 ASSEZ IMPORTANT	<ul style="list-style-type: none"> - Essai de limitation de l'emploi de produits dangereux : remplacement par produits moins dangereux cf. suppression emploi de l'acide chlorhydrique - Utilisation d'un distributeur automatique pour le versement de l'acide - Procédure de nettoyage à formaliser par écrit
Rejet à l'égout : risque environnemental	Reviviscence des cellules, absence de destruction totale	Toute personne extérieure au Centre	Insigni. 1	Peu probable 2	(2X2) 4 PEU IMPORTANT	<ul style="list-style-type: none"> - Création d'une notice précisant le temps de contact en fonction du volume de cultures à détruire (+ quantité d'eau de javel à introduire)

Fiche outil N°9 : ANALYSE DE RISQUES

ETAPE : **NETTOYAGE Verrerie "classique"**

Localisation : Laverie S167.

Acteur(s) concerné(s)¹ : Aide de laboratoire

Sources de risques	Dangers détectés	Personnes exposées	Evaluation		Chiffre du risque	Mesures préconisées
			G	P		
Contenu de la verrerie « classique » : reste de résidus de substance dangereuse	Absence d'identification de la nature des risques générés par la substance : incident lié aux dangers inhérents à la catégorie de la substance	Aide de laboratoire	Mineur 2	Possible 3	6 ASSEZ IMPORTANT	- rappel et affichage de la consigne pour sensibiliser les nouveaux arrivants et stagiaires au-dessus des portoirs et sur la porte d'entrée de la laverie : « toute verrerie déposée à la laverie doit être préalablement rincée »
Manipulation d'Ethanol et d'Acétone	Inhalation de vapeurs nocives Produits inflammables : risque d'incendie	Aide de laboratoire	Mineur 2	Possible 3	6 ASSEZ IMPORTANT	- Manipulation sous la hotte aspirante - Vérification du revêtement du sol qui ne doit pas être conducteur d'électricité statique : si présence d'un risque, installation d'un tapis en matière antistatique devant le poste de travail
Stockage de produits chimiques sur la tablette de décharge de la pailasse (Ethanol, Acétone, acide chlorhydrique)	Risque de déversement sur le manipulateur + produits inflammables	Aide de laboratoire	Mineur 2	Possible 3	6 ASSEZ IMPORTANT	- stock dans une armoire antidéflagration pour l'ensemble des produits inflammables du laboratoire - limiter le stock tampon - entreposage des produits sous la pailasse

REMARQUES

Interrogation sur le niveau de protection de l'agent concerné lors de manipulations effectuées sous la hotte aspirante *cf. page 28.*

PRECONISATIONS GENERALES

- La sensibilisation aux risques professionnels des membres du laboratoire est à renouveler régulièrement pour s'assurer de l'application des mesures mises en place. Elle doit intégrer un rappel des BPL, Bonnes Pratiques de Laboratoire et notamment des règles de manipulation (exemple : généraliser l'utilisation de pro pipettes).
- L'accès de personnes étrangères doit être réglementé (visiteurs externes...).

V- ANALYSE DES DECHETS PRODUITS

Dans le cadre de l'étude des nuisances ou des impacts sur l'environnement des polluants rejetés, nous nous intéressons aux déchets liés à l'activité du laboratoire :

- les déchets biologiques avec le rejet dans les eaux usées des cultures d'algues toxiques décontaminées,
- les déchets des produits chimiques utilisés.

5.1. Contexte réglementaire

Thème	Référence	Obligations
Déchets	<p><i>Loi N° 75-633 du 15 juillet 1975, modifiée par la loi du 13 juillet 1992</i> <i>Décret n° 94-609 du 13 juillet 1994 portant application de la loi N° 75-633</i> relative à l'élimination des déchets et la récupération des matériaux</p> <p><i>Art 1- Loi du 15 juillet 1975</i> « Est un déchet (...) tout résidu d'un processus de production, de transformation ou d'utilisation, toute substance, matériau, produit ou plus généralement tout bien meuble abandonné ou que son détenteur destine à l'abandon ».</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Les producteurs et détenteurs des déchets, dans les conditions de nature à produire des effets nocifs sur le sol, la flore et la faune, à dégrader les sites ou les paysages, à polluer l'air ou les eaux, à engendrer des bruits et des odeurs d'une façon générale à porter atteinte à la santé de l'homme et à l'environnement, sont tenus d'en assurer ou d'en faire assurer l'élimination. Ces dispositions s'appliquent à tous les types de déchets <i>cf. typologies</i>.
Typologies	<ul style="list-style-type: none"> • Déchets industriels banals ou DIB : recyclables, non dangereux (verre, plastique, carton-papier, matières organiques...), assimilables aux déchets ménagers (collectés par les OM, Ordures Ménagères sous la responsabilité des communes. • Déchets industriels spéciaux ou DIS : dangereux, nécessitant un traitement spécial (huiles, solvants, métaux lourds...) <p>Classification <i>selon le Décret N° 97-517 du 15 mai 1997, la Nomenclature définie par l'avis du 11 novembre 1997</i> : en fonction de leurs constituants, de leur propriété de danger, des risques liés à leur élimination : explosif, comburant, extrêmement inflammable, facilement inflammable, inflammable, irritante, nocive, toxique, cancérigène, corrosive, toxique vis-à-vis de la reproduction, mutagène, dangereux pour l'environnement, infectieux (une matière contenant des micro-organismes viables ou leurs toxines, dont on sait ou dont on a de bonnes raisons de croire qu'ils causent la maladie chez l'homme ou chez d'autres organismes vivants)</p> <p>Les DIS regroupent : les déchets chimiques (non infectieux, non radioactifs), les déchets biologiques (non radioactifs) dont le stockage temporaire doit s'effectuer en chambre froide ou congélateur, les déchets radioactifs.</p> <p>Remarque : existence d'autres appellations usitées : déchets de laboratoires souillés (assimilés DAS, déchets des activités de soins), déchets toxiques en quantités dispersés ou DTQD).</p>	<p><i>Article 2-1 de la loi du 15 juillet 1975</i> Les déchets industriels spéciaux, figurant en raison de leurs propriétés dangereuses sur une liste fixée par décret en Conseil d'Etat (Décret no 97-517), ne peuvent pas être déposés dans des installations de stockage recevant d'autres catégories de déchets.</p> <p>Obligation du collecteur de DIS Transmettre au chef d'établissement un bordereau de suivi des déchets industriels (BSDI, Cerfa N°07 0320)</p> <p>Obligations de l'entreprise productrice de déchets</p> <ul style="list-style-type: none"> - informer les services chargés de contrôle (DRIRE) pour les DIS , - renseigner le transporteur ou l'éliminateur sur la nature des déchets, - surveiller l'élimination finale des déchets : archiver obligatoirement les bordereaux de suivi (traçabilité du traitement des DIS), - s'assurer qu'au moment de leur remise au transporteur, aucun risque ne pourra porter atteinte aux personnes chargées de la collecte, du transport et de l'élimination des DIS. <p>Note : le Règlement Sanitaire Départemental (RSD de Loire Atlantique) en complément de la réglementation précitée n'apporte de précisions supplémentaires que pour les déchets des établissements hospitaliers et assimilés.</p>

EAUX USEES	<p>Historique du Centre Programme Neptune visant la mise aux normes des stations d'épuration et la réduction des rejets directs dans les cours d'eau : obligation pour le Centre de Nantes avant le 31 décembre 1998 du raccordement de ses installations d'assainissement au réseau public nantais pour l'évacuation de ses eaux usées (auparavant traitées par la station d'épuration du Centre)</p> <p><u>Caractéristiques du Schéma Directeur d'assainissement de l'agglomération nantaise</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - station d'épuration concernée pour le Centre : station d'épuration intercommunale de Tougas - gestionnaire : <i>Direction de l'Assainissement de la Communauté Urbaine</i> (en remplacement depuis le 1^{er} janvier 2001 du Syndicat d'assainissement de l'agglomération nantaise, District de l'agglomération nantaise) 	<p>Obligation de respecter la réglementation sur les rejets dans le milieu naturel ou les réseaux de collecte des eaux urbaines <i>Code de la santé publique : partie Législative (Ord. no 2000-548, 15 juin 2000)</i> Art. L. 1331-10 .- « Tout déversement d'eaux usées, autres que domestiques, dans les égouts publics doit être préalablement autorisé par la collectivité à laquelle appartiennent les ouvrages¹⁶ qui seront empruntés par ces eaux usées avant de rejoindre le milieu naturel. L'autorisation fixe, suivant la nature du réseau à emprunter ou des traitements mis en œuvre, les caractéristiques que doivent présenter ces eaux usées pour être reçues. »</p> <p>⇒ nécessité d'une autorisation de rejet pour toute activité non domestique : signature d'une « Convention de rejet » avec le Syndicat précisant</p> <ul style="list-style-type: none"> • les normes techniques d'autorisation de déversement : <ul style="list-style-type: none"> - PH compris entre 6,5 et 8,5 et Température inférieure à 25° C¹⁷ - Rejets interdits¹⁸ : toute matière solide, liquide ou gazeuse susceptible d'être la cause directe ou indirecte soit d'un danger pour le personnel d'exploitation des ouvrages d'évacuation et de traitement, soit d'une dégradation des dits ouvrages ou d'une gêne dans leur fonctionnement ; interdiction notamment de déversement d'acides, de sulfures, de produits radioactifs et plus généralement toute substance pouvant dégager soit par elle-même soit après mélange avec les autres effluents des gaz ou vapeurs dangereux, toxiques ou inflammables • <i>Arrêté préfectoral du 22 mars 1995</i> : admissibilité des rejets Lorsque le flux maximal apporté par l'effluent est susceptible de dépasser : <ul style="list-style-type: none"> - 15 kg/j de MES (matières en suspension) - 15 kg/j de DBO5 (demande biochimique en oxygène) - 45 kg/j de DCO (demande chimique en oxygène) Les valeurs limites admissibles à la sortie de l'installation ne doivent pas dépasser : <ul style="list-style-type: none"> - MES : 600 mg/l (matières en suspension) - DBO5 : 800 mg/l (demande biochimique en oxygène) - DCO : 2 000 mg/l (demande chimique en oxygène) - N global : 150 mg/l (azote) - P total : 50 mg/l (phosphore total) • le montant de la redevance d'assainissement (collecte et traitement des eaux usées) : facturation émise par <i>la Direction de l'Eau potable de la communauté urbaine</i> (en remplacement depuis le 1^{er} janvier 2001 du Syndicat Intercommunal de l'Eau)
------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

¹⁶ Collecteurs et stations d'épuration

¹⁷ Annexe 2, Décret N°94-469 du 3 juin 1994 relatif à la collecte et aux traitements des eaux usées

¹⁸ Règlement Sanitaire Départemental - Art. 233-3 Déversements délictueux

5.2. Destruction des cultures et évacuation dans les eaux usées

A- Contexte du Centre

- cadre contractuel : absence de convention de rejet¹⁹ induisant l'absence de notification de paiement de la redevance d'assainissement²⁰
- préconisation : régulariser cette situation auprès des services concernés de l'agglomération nantaise, réaliser des mesures pour évaluer la conformité des effluents rejetés (mesures à effectuer : PH, MES, DCO, DBO5, Azote totale, Phosphore total + débit)

B- Mode de destruction du laboratoire

▪ Les cultures sont détruites chimiquement à l'aide d'extrait d'eau de javel de 48°Chl (cf. partie III). Cette procédure repose sur les recommandations de l'UNESCO (Intergovernmental Oceanographic Commission, Manual on Harmful Marine Microalgae – 1995) : « *In order to avoid contaminating local waters, all cultures of known or presumed toxic species should be kept and discarded with precautions like those used with pathogens. Discarded cultures should be treated by heat (autoclaving) or chemical sterilization (e.g. aqueous solution of sodium hypochlorite, which can be in the form of commercial household bleach) before being released into waste lines.* »

▪ Notons que l'UNESCO ne précise pas la dilution d'eau de javel à utiliser et le temps de contact à respecter. Différents essais ont été réalisés par le laboratoire DEL/PN pour évaluer la destruction effective des cultures et leur capacité de reviviscence dans le milieu naturel d'eau douce.

Essais 01/10/1992²¹ : destruction de cultures d'*Alexandrium tamarense* en ballons

Constat : mortalité des cellules au bout d'un quart d'heure avec une dose de 0,8 ml d'eau de javel (quantité de culture : 50 ml)

Essais 19/01/1993²² : contact de 48 600 cellules d'*Alexandrium minutum* avec de l'eau de l'Erdre

Temps de contact	3 heures	18 heures
Nombre de cellules mortes	37700	24300
Nombre de kystes	10150	4050
↓	↓	↓
Nombre de cellules vivantes au bout de 10 jours de remises en culture dans 120 ml d'eau de mer (milieu de culture)	30720	7020

Les kystes peuvent se revivifier s'ils sont en contact avec de l'eau de mer, après 18 heures passés en eau douce.

⇒ Le risque de sécurité sanitaire est donc potentiel en cas d'oubli de destruction des cultures.

5.3. Gestion des déchets du Centre

A- Déchets chimiques du Centre

- Stockage : local spécifique (S 923, 925,927), situé au sous-sol du bâtiment scientifique cf. partie I
- Utilisateurs des produits chimiques : DEL/MP-PN, DEL/PC, DRV/VP
- Traitement et élimination par une société spécialisée, SOREDI²³ : produits chimiques solides et liquides
 - collecte annuelle (3/4 fois par an selon quantité)
 - conditions d'enlèvement : avertissement du Service Logistique et technique par un agent de DEL/PC, de la nécessité de procéder à un enlèvement des produits, accueil de la société SOREDI par un agent du Service Technique et Logistique
 - obtention d'un bordereau de suivi des déchets industriels (attestant la destruction des produits collectés)

¹⁹ Source : Chef du Service Logistique et technique, Chef du Service des Contrats

²⁰ Source : Chef du bureau financier du Centre de Nantes

²¹ Source : Technicien, responsable de cultures

²² Idem

²³ Entretien Service logistique et technique, Agent DEL/PC

ANALYSE DU CONTRAT²⁴

Contrat d'élimination des déchets liquides avec mise à disposition de bonbonnes appartenant à SOREDI

Prestations	Typologie de déchets
Traitement de déchets,	divers déchets en petits conditionnements (sacs, bidons autres que bonbonnes Coralie) - code nomenclature : 16 05 03 ²⁵
Transport : collecte à Nantes, transport sur les centres de traitement	déchets de laboratoire courants (flacons d'origine) - code nomenclature : 16 05 03
	déchets de laboratoire réactifs (flacons d'origine) - code nomenclature : 16 05 03
	déchets chimiques liquides conditionnés en 16 bonbonnes « Coralie » de 30 litres, propriété de la société SOREDI (3 catégories de produits usés) : - inflammables, très inflammables, halogénés, - acides, - basiques.

Clauses du contrat de service N° 400040 Bonbonnes Coralie	Observations
Article IX « <i>le contrat sera résilié de plein droit pour : (...) non-respect des réglementations officielles (loi du 15 juillet 1975)</i> »	Affichage présent dans le local : - consignes d'utilisation des bonbonnes (Annexe 2 du contrat) - produits à proscrire dans les bonbonnes Coralie (Annexe 3)
Annexe 2 « <i>les mélanges de produits liquides effectués dans les bonbonnes CORALIE par le client s'effectuent sous son entière responsabilité, notamment au regard des risques liés à d'éventuelles réactions dangereuses : projection de produits, auto inflammation, explosion, dégagements gazeux. Le client doit donc s'assurer que les personnes effectuant les manipulations sont qualifiées et qu'elles utilisent les équipements de sécurité (lunettes, masques, vêtements, gants) éventuellement nécessaires</i> »	- Absence de formation de tous les acteurs concernés aux risques chimiques - Veiller au port des EPI lors des opérations

⇒ évaluation des risques

- absence de procédure définissant les rôles et consignes de manipulation des bonbonnes de récupération des produits
- antécédent : incident du 31 décembre 1998, mélange de produits en raison d'une absence d'étiquetage des flacons déposés

Préconisations complémentaires (partie I, page 6 – configuration du local ; page 8 – réalisation d'un protocole de sécurité avec la société SOREDI) :

- affichage des consignes de sécurité et de la procédure de manipulation des bonbonnes
- sensibilisation par le chef de laboratoire des règles de manipulation, règles de sécurité (port EPI, étiquetage...), rappel de l'accès réservé aux seules personnes habilitées (stagiaires non habilités)
- suivi historique de dépôt de déchets
- nomination « officielle » d'un responsable du suivi des déchets par laboratoire

²⁴ Source : Chef du Service Logistique et technique

²⁵ Nomenclature des déchets : avis du 11 nov 1997, 16 05 03 : autres déchets contenant des produits chimiques organiques, par exemple produits chimiques de laboratoire non spécifiés ailleurs

B- déchets industriels banals et domestiques ²⁶

Etude de l'existant au niveau du Centre

CONTAINERS					ENLEVEMENT		Observations	Acteurs concernés
Nombre	Taille, couleur	Désignation	Localisation	Type de déchets à entreposer	Collecteur/Prestations	Périodicité		
1	1 100 L vert	DIB ou tout venant	Extérieur	Gravats, polystyrène, PVC, laine de verre, câble électrique	GRANDJOUAN ²⁷ Prestations : enlèvement, valorisation ou élimination des DIB	2 fois par semaine	- absence d'affichage sur ou près du container de la liste de déchets autorisés à être déversés dans le container - CONFORMITE LOI 15 juillet 1975 - Exception de déchets souillés (déchets assimilés DAS)	Agents Ifremer
1	Bac JUMBO 11m3	DIB	Extérieur	Bois, papier/carton, housse plastique, ferraille		sur appel téléphonique du STL	- pancarte signalant le type de déchets concernés - cartons non pliés - CONFORMITE LOI 15 juillet 1975	Agents Ifremer Entreprise de nettoyage
Plusieurs	containers à roulettes 240 L gris avec couvercle bleu	DECHETS DOMESTIQUES	Extérieur	Ordures ménagères et ordinaires	Ville de Nantes ²⁸	2 fois par semaine	- veiller au respect de l'environnement et du voisinage : propreté du site	Entreprise de restauration
2	containers à roulettes 240 L verts avec ouverture ronde sur le dessus	VERRE	1° : extérieur 2° : VP	Verre	Ville de Nantes ²⁹ - Collecteur : ville de Nantes - Stockage : Déchetterie Prairie de Mauves - Traitement : - St Gobain, Cognac	2 fois par semaine	- présence de tubes néon => filière obligatoire : déchets toxiques avant le traitement du verre - déchets interdits : verres à vitre, verres de pare brise, pyrex - déchets autorisés : bouteilles de produits chimiques vides ³⁰	Agents Ifremer
Plusieurs	containers à roulettes 240 L verts	logo de l'association	1°:atelierSTL 3 : bâtiment scientifique	papier	association « L'arbre »	-	-	Agents Ifremer

²⁶ Source : responsable STL + consultations du contrat de la société GRANDJOUAN

²⁷ Source : contrat d'enlèvement de déchets industriels banals (collecteur : GRANDJOUAN ONYX)

²⁸ Source : Propreté publique, Ville de Nantes

²⁹ Source : Directeur de la Déchetterie Prairie de Mauves (Nantes)

³⁰ Idem

Préconisations

- Tubes en néon (DIS)
 - mettre en place un tri sélectif des tubes néon et appel à un fournisseur pour leur élimination
 - fournisseur potentiel : SEDIMO (fournisseur actuel du Centre)³¹
 - prestations proposées : fourniture d'un container « fluo-box » d'une capacité de stockage de 300 unités environ, enlèvement et transfert en centre agréé pour destruction *cf. devis annexe*

- Pyrex (non souillé)

Il n'existe pas de filière de traitement pour l'élimination du pyrex (information confirmée par les fournisseurs actuels du laboratoire, par la déchetterie de Mauves et l'usine de traitement ST Gobain de Cognac).

Actuellement, les éléments en pyrex sont stockés dans des cartons dûment scotchés et déposés dans le container DIB ou tout venant.

³¹ Fournisseur assainissement : curage collecteur principal eaux usées et nettoyage des bondes de sols

PRINCIPALES PRECONISATIONS

Approche globale

- **Stockage de substances et préparations dangereuses**
 - s'assurer que les quantités stockées sont inférieures aux seuils réglementaires des installations classées avec un recensement global des produits par catégorie entreposée dans chaque laboratoire et dans le local de produits chimiques et si elles s'avèrent inférieures aux seuils réglementaires, suivre les recommandations de stockage de l'INRS,
 - améliorer les conditions de stockage des produits chimiques dans le local situé en sous-sol du bâtiment scientifique (emplacement, bacs de rétention...) et dans la salle spécifique où est entreposé un acide comburant, l'acide peracétique (mise en place d'une signalisation réglementaire, vérification de la date de péremption du produit),
 - développer une gestion globale des stocks pour identifier les éléments entrants et sortants création d'une fiche de recensement des produits pour chaque lieu de stockage précisant : le nom du produit, ses propriétés (explosif, comburant, inflammable, toxique, nocif, irritant...), son état physique (liquide, solide...), les quantités stockées, les dates de réception et d'ouverture, les dates de péremption. Ces informations sont indispensables en cas d'incidents voire d'accidents pour les services extérieurs d'intervention d'urgence.
- **Au titre de la réglementation sur les ERP, Etablissement Receveur de Public**
 - afficher près de l'entrée principale un « avis » relatif au contrôle de la sécurité conforme au modèle réglementaire.
- **Interventions d'entreprises extérieures**
 - procéder à une révision annuelle des plans de prévention,
 - réaliser un protocole de sécurité avec la société d'enlèvement des produits chimiques.

Approche spécifique au laboratoire DEL/PN

- **Stockage de substances et préparations dangereuses**
 - collecter auprès des fournisseurs les fiches de données de sécurité et les archiver dans un endroit accessible à tous les acteurs du laboratoire,
 - assurer le stockage dans une armoire antidéflagration de l'ensemble des produits inflammables,
 - limiter le stock tampon dans le laboratoire à des produits couramment utilisés, privilégier le stockage dans le local de produits chimiques et proscrire le stockage sur les tablettes de décharge des paillasses,
 - inscrire sur les emballages des produits les dates prévues d'élimination pour garantir leur conservation suivant la durée requise et préconisée par le fournisseur.
- **Matériels**
 - envisager le remplacement d'un appareil électrique dont le moteur ne présente pas de protection (pompe à galets) par un appareil non-conducteur (pompe pneumatique utilisant le réseau d'air comprimé du Centre),
 - entreposage d'une bouteille de CO₂ (gaz dangereux, non détectable à l'odeur) dans la salle de culture en bio-réacteurs : installation d'un détecteur et d'une alarme sonore et visuelle à l'extérieur des salles de culture et si possible à l'intérieur de la salle, signalisation sur la porte du sas d'une zone à risque.
- **Formations des acteurs**
 - étendre la formation à la conduite d'autoclave à d'autres acteurs du laboratoire (nombre de personnes formées limitées),
 - dispenser une formation aux risques chimiques à l'aide de laboratoire.
- **Risque environnemental**
 - rejet à l'égout des cultures détruites à l'eau de javel : créer une notice précisant le temps de contact en fonction du volume de cultures à détruire (+ quantité d'eau de javel à introduire),

- absence de signature d'une convention de rejet avec le Syndicat d'assainissement de l'agglomération nantaise contractée par le Centre : à étudier.
- **Stockage des souches**
- limiter l'accès aux seules personnes habilitées : installer un système de fermeture de l'armoire de stockage située dans le couloir du laboratoire, afficher un panneau de signalisation réglementaire « entrée interdite aux personnes non autorisées » à l'entrée des salles de culture et sur chaque porte des salles de culture, un panneau « cultures d'algues toxiques » (information dissuasive et préventive),
- tenir une liste des produits stockés mentionnant les nom et prénom de la personne responsable, un registre précisant la provenance des souches et les échanges avec d'autres organismes (traçabilité).

LE RISQUE BIOLOGIQUE

Le risque biologique semble mineur selon les acteurs du laboratoire concerné en raison de la dilution des toxines dans le phytoplancton et du caractère non pathogène des micro-organismes manipulés.

Il n'existe pas actuellement de cadre légal régissant les conditions de manipulations et de cultures des algues toxiques. Toutefois les toxines dont elles sont porteuses, présentent un risque pour la santé humaine.

Rappelons qu'au niveau réglementaire :

- **L'une des toxines utilisées par le laboratoire, la saxitoxine, est répertoriée en tant qu'arme chimique** et conduit à l'obligation d'une déclaration annuelle du stock, des quantités importées et consommées dans le cadre de l'application de la *Convention sur l'Interdiction de la mise au point, de la fabrication, du stockage et de l'emploi des Armes Chimiques et sur leur destruction* (CIAC) qui soumet les activités de recherche, considérées comme licites, à un régime de vérification,
- les algues ne sont pas intégrées dans la classification des agents biologiques et sont seulement citées dans une publication du *Comité international de l'Association Internationale de la Sécurité Sociale, AISS, pour la prévention des risques professionnels dans l'industrie chimique* ; mais selon les recommandations de l'INRS, *Institut National de Recherche et de Sécurité, l'évaluation des risques professionnels ne doit pas s'appliquer uniquement aux micro-organismes classés.*

L'INRS pourrait étendre ses investigations aux autres risques résultant de l'exposition à des agents biologiques, notamment « toxiques » et non aux seuls micro-organismes susceptibles de provoquer chez l'homme une pathologie infectieuse. Notons que cet institut exerce un rôle d'expertise auprès du Ministère du Travail, notamment dans le cadre de l'élaboration de la liste européenne de classement des micro-organismes. Il est souhaitable d'opérer une veille réglementaire attentive sur cette thématique.

En outre, nous préconisons la rédaction d'un protocole de manipulation qui sera communiqué à tout nouvel arrivant et diffusé auprès de chaque acteur du laboratoire, ainsi que l'utilisation d'un équipement adapté (poste de sécurité biologique...) et le suivi des Bonnes Pratiques Biologiques.

Nous nous interrogeons également sur la nécessité d'instaurer des règles recommandées par l'INRS « *pour l'utilisation et la manipulation de produits et substances potentiellement génotoxiques (cancérogènes, mutagènes et/ou toxiques pour la reproduction)* » pour les espèces d'algues les plus toxiques ? En effet, il semble que « *l'acide okadaïque (phycotoxines diarrhéiques) est un promoteur tumoral suspecté d'être également un génotoxique* ».

PROSPECTIVE : VERS UNE POLITIQUE GLOBALE DE PREVENTION DES RISQUES

Outre les principales préconisations précitées, il serait souhaitable :

- ⇒ d'établir des consignes de sécurité au poste de travail (rappel des règles d'utilisation des produits dangereux, des EPI équipements de protection individuelle, des gestes et comportements à adopter pour travailler en sécurité, des Bonnes Pratiques de Laboratoire) et des consignes environnementales (ne pas rejeter des produits nocifs pour l'environnement dans les eaux usées, respecter les règles de tri et d'élimination des déchets),
- ⇒ de dispenser une formation succincte à tout nouvel arrivant entérinée par la transmission d'une « attestation d'information sur les consignes de sécurité et environnementales ».

Cette formation doit s'accompagner d'une sensibilisation aux risques professionnels des membres des laboratoires à renouveler régulièrement pour s'assurer de l'application des mesures mises en place. Elle doit intégrer un rappel des BPL, Bonnes Pratiques de Laboratoire et notamment des règles de manipulation (exemple : généraliser l'utilisation de pro pipettes).

L'objectif de notre mission consistait en une évaluation des risques professionnels dans le cadre de séquences de travail liées à **la culture d'algues toxiques** au sein du laboratoire DEL/PN. Comme le démontre l'approche systémique du présent rapport, d'autres sources de dangers peuvent être générées par les activités du Centre.

Des études similaires devraient être conduites pour les phases ultérieures de contamination et décontamination, d'analyses de la concentration des toxines et également dans les autres laboratoires pour mettre en œuvre une politique globale de prévention des risques.

Liste des annexes

- Rapport de la COPR
- Fiches produits de l' Institut des biosciences marines (IBM) du Conseil national canadien de recherches (CNRC)
- Devis collecte et traitement des tubes en néon, société SEDIMO

Affaire suivie par :
Yvon DANIEL
(02.40.37.85.54)

Nos réf. : L11C0104062
Vos réf. : courrier du 28/03/01
D/CN/CMHD/AC N° 01.36
N° POL. 98.239

Nantes, le 18 AVR. 2001

Objet : rapport d'intervention

IFREMER
A l'attention de M. Durand
Rue de l'île d'Yeu
BP 21105
44311 NANTES CEDEX 3

COURRIER "ARRIVEE" IFREMER - NANTES					
19 AVR. 2001					
D	DA	AGS	DEL/MP	D/COM	DAS
ALR/OA	BIBL	DRV	DRV/PC	DRV/RH	DRV/AF
DEL/D	DEL/PC	DEL/MP	DEL/NT	DIT/VIDT	
Copies :					

Monsieur,

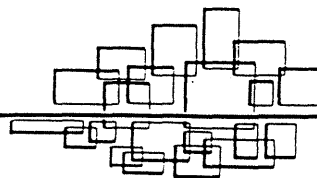
Par lettre ci-dessus référencée, vous avez souhaité que vous soit transmis le rapport d'intervention du 21 décembre 1998.

J'ai le plaisir de vous communiquer, ci-joint, le document demandé.

Vous en souhaitant bonne réception, je vous prie de croire, Monsieur, à l'assurance de ma considération distinguée.

Le Vice-Président délégué,

G. POTIRON
Président de la Commission Environnement
Maire de La Chapelle sur Erdre



Cellule Opérationnelle
de Prévention des Risques
Tél. 02 40 37 85 55 - Fax 02 40 37 85 61

Affaire suivie par : F. LE PORT et C. EVEN

Le 20 janvier 1999

POL n° : 98239

N/Réf : FLP/COPR/98148/MCM

OBJET : IFREMER - Emanation de vapeurs à partir d'un mélange d'acides.

COMPTE RENDU D'INTERVENTION

Le **lundi 21 décembre 1998**, le Centre de Traitement de l'Alerte de NANTES sollicite notre intervention vers 15 H 30 rue de l'Île d'Yeu à NANTES pour une pollution chimique au sein de l'établissement IFREMER.

Arrivés sur place, nous sommes accueillis par M. AUGER, technicien chimiste à IFREMER qui nous dirige sur les lieux de la pollution. Il s'agit d'un local de stockage de différents acides et solvants utilisés dans les laboratoires de l'entreprise, situé en sous-sol d'un bâtiment.

M. AUGER nous explique que l'ensemble des résidus de différents produits chimiques (d'une quantité approximative de 20 à 30 l), ont été mélangés dans un même fût afin d'être évacué pour destruction vers la société SOREDI à Saint Herblain Route du Plessis Bouchet. Malheureusement, au cours de cette manipulation, une réaction s'est produite avec dégagement de vapeurs à partir du fût collecteur. Le local a donc été fermé et il a été fait immédiatement appel aux pompiers.

Par une trappe de la porte du local en question, nous constatons effectivement un dégagement gazeux au-dessus du fût collecteur accompagné de fortes odeurs qui se répandent dans les couloirs du sous-sol.

Nous refermons alors la trappe et quittons les couloirs. Les sapeurs-pompiers et le Lieutenant BRAUDEAU arrivent alors sur les lieux et décident l'évacuation du bâtiment et la mise en place d'un périmètre de sécurité.

Les investigations seront désormais réalisées par les pompiers de la Cellule Mobile d'Intervention Chimique en tenue de protection.

.../...

Parallèlement, nous contrôlons sous appareil respiratoire isolant, la teneur des vapeurs émises à l'extérieur du bâtiment par la ventilation du local, sans aucun résultat significatif.

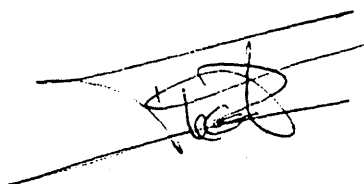
Le Capitaine GIRAUD et le Commandant QUETEL, nous ont rejoints sur les lieux, il est alors décidé au vu des premières investigations (mesures explosimétriques, H₂S, acide cyanhydrique, O₂ = non significatives) :

- d'effectuer un prélèvement du composé chimique pour analyse,
- de reboucher le fût collecteur et de le placer dans un surfût,
- d'évacuer le surfût pour éviter tout risque de réaction avec les autres produits chimiques stockés,
- de faire appel à la société SOREDI pour le transport et la destruction.


L'échantillon prélevé, est transmis à la Société d'Etude des Risques Toxiques (Professeur BOITEAU) pour analyse. Par contre, au moment des faits, la société SOREDI ne dispose pas de moyens de transport de matières dangereuses ; il est décidé d'effectuer le transport du fût solidement amarré dans un véhicule des pompiers avec un convoi sous protection de la Police Nationale et de la COPR.

Le soir même à 18H30, le fût est déposé au sein de l'établissement SOREDI. Les résultats d'analyse démontreront que le mélange d'acides ainsi formé, contenait :

10,7 g/l d'acide chlorhydrique
10,7 g/l d'acide phosphorique
510 g/l d'acide sulfurique.



Fabien LE PORT



Christophe EVEN

**IBM**

Institut des biosciences marines

Page d'accueil

Interrogation

Plan du site

Contactez-nous

Site CNRC

Site Canada

English

Au sujet de l'IBM

Recherches

Publications

Nouvelles

Occasions d'affaires

Personnel

Centre d'information

PARI

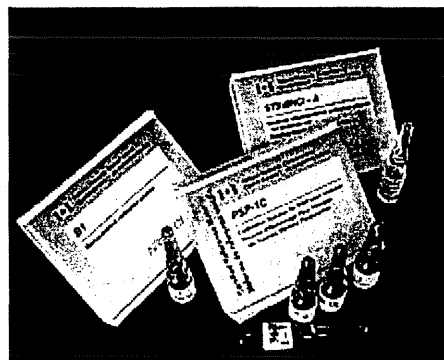
Sites branchés

Programme des matériaux de référence certifiés

Intoxication paralysante par les coquillages

PSP-1C

Ce produit est offert dans une trousse de quatre ampoules contenant des solutions individuelles de saxitoxine (STX), de néosaxitoxine (NEO), un mélange de gonyautoxine-2 et gonyautoxine-3 (GTX 2/3), et un mélange de gonyautoxine-1 et gonyautoxine-4 (GTX 1/4), tous en forme de sels d'acétates. Les concentrations des formes libres sont : STXdiAc-1 (480 $\mu\text{mol/L}$), NEO-1 (440 $\mu\text{mol/L}$), GTX 2/3-1 (300 et 73 $\mu\text{mol/L}$ respectivement), et GTX 1/4-1 (180 et 79 $\mu\text{mol/L}$ respectivement).



Chaque ampoule contient 0,2 mL de chaque étalon dans une solution d'acide acétique de 0,1M. Des ampoules individuelles de NEO et des deux mélanges de GTX sont également disponibles. Les concentrations de ces toxines ont été choisies pour répondre aux besoins de la chromatographie liquide haute performance (CLHP) utilisant la détection par fluorimétrie. Conservées et manipulées avec soin, ces solutions offrent un moyen rentable d'assurer la fiabilité des dosages des principales toxines paralysantes présentes dans vos échantillons.

STXdiHCl-C

STXdiHCl-C est une solution d'étalonnage de dihydrochlorure de saxitoxine conçue pour l'essai biologique ainsi que l'usage analytique. Il est offert comme trousse de quatre ampoules, chacune contenant 0,2 mL d'une solution de dihydrochlorure de saxitoxine à une concentration mesurant $\mu\text{g/mL}$ en acide hydrochlorique de 0,003M. STXdiHCl-C n'a pas encore été certifié et son prix est ajusté en conséquence.

B1

Des solutions d'acétate de gonyautoxine-5 sont maintenant disponibles mais recommandées seulement pour l'usage analytique. Chaque ampoule contient 0,25 mL avec une concentration en acétate de GTX-5 de 129 $\mu\text{g/mL}$ en acide acétique de 0,1M.

En cours d'élaboration

Nous élaborons continuellement de nouvelles méthodes d'analyse des toxines de coquillages, qui aboutissent à la production de nouvelles MRC. Nous tiendrons nos clients au fait des progrès en leur postant des bulletins périodiques et en mettant à jour notre site Web.

CONTACTES

crm.imb@nrc.caou Denise LeBlanc,
Gestionnaire, PMRC

Programme des
matériaux de référence
certifiés, Institut des
biosciences marines
du CNRC,
1411, rue Oxford,
Halifax (N.-É.)
CANADA B3H 3Z1
Téléphone :
(902) 426-8280
Télécopieur :
(902) 426-5426

NOTA :

Les personnes qui avaient commandé la version précédente, PSP-1B, peuvent avoir noté des retards d'expédition de 6 à 8 semaines, voire ne pas l'avoir reçue du tout. Ce retard ou cette non-disponibilité était la conséquence de règlements d'exportation imposés en vertu de la Convention pour l'interdiction des armes chimiques (CIAC). Néanmoins, aucun de nos produits saxitoxines actuels n'exige de permis d'exportation spécial. Si vous avez quelque préoccupation ou question, veuillez communiquer avec nous.

CMRC-NRC

MATERIAL SAFETY DATA SHEET**PSP-1C****SECTION I PRODUCT IDENTIFICATION**

MANUFACTURER'S NAME Certified Reference Materials Program
National Research Council Canada
Institute for Marine Biosciences
1411 Oxford Street
Halifax, Nova Scotia
B3H 3Z1

EMERGENCY TELEPHONE: (902) 426-8280

PRODUCT NAME: Solutions of paralytic shellfish toxins in dilute acetic acid

TRADE NAME: PSP-1C

PRODUCT USE: For laboratory use only

SECTION II HAZARDOUS INGREDIENTS

CHEMICAL NAME	CAS NO.	CONCENTRATION
Acetic acid	00064-19-7	0.1M
Saxitoxin diacetate	220355-66-8	480 µmol/L
Neosaxitoxin diacetate	64296-20-4*	440 µmol/L
Gonyautoxin-1 (GTX-1) acetate	60748-39-2*	180 µmol/L
Gonyautoxin-2 (GTX-2) acetate	60508-89-6*	300 µmol/L
Gonyautoxin-3 (GTX-3) acetate	60357-65-7*	73 µmol/L
Gonyautoxin-4 (GTX-4) acetate	64296-26-0*	79 µmol/L

* CAS No. for free base forms

SECTION III PHYSICAL DATA

Physical State: Liquid

Appearance and Odour: Clear, colourless liquid with a vinegar odour

Specific Gravity: 1.0

Vapour Pressure: Not determined

Vapour Density: Not determined

Evaporation Rate: Not determined

Boiling Point: Not determined

Freezing Point: Not determined

pH: 2.9

Coefficient of Oil/Water Distribution: Not determined

SECTION IV FIRE AND EXPLOSION HAZARDS

Conditions of Flammability:	Not flammable
Flash Point:	Not applicable
Extinguishing Media:	Compatible with water spray, foam, dry powder, carbon dioxide
Hazardous Combustion Products:	Not applicable
Explosion Data:	Not applicable

SECTION V REACTIVITY DATA

Stability:	Normally stable under conditions of use and storage
Incompatibilities:	Alkalies, carbonates, strong bases, strong oxidizing agents, most common metals (except aluminium), chromic acid, nitric acid, hydrogen peroxide, sulfuric acid
Hazardous Decomposition Products:	carbon dioxide, carbon monoxide

SECTION VI TOXICOLOGICAL PROPERTIES

Route of Entry:	
• Skin Contact:	Toxic and Irritates
• Skin Absorption:	Toxic
• Eye Contact:	Toxic and Irritates
• Inhalation:	Toxic and Irritates
• Ingestion:	Toxic
LD ₅₀ :	263 µg/kg (oral, mouse) (saxitoxin) 10 µg/kg (i.p., mouse) (saxitoxin) 10.8 µg/kg (i.p., mouse) (neosaxitoxin) 10.6 µg/kg (i.p., mouse) (GTX 1) 27.8 µg/kg (i.p., mouse) (GTX 2) 15.7 µg/kg (i.p., mouse) (GTX 3) 13.8 µg/kg (i.p., mouse) (GTX 4) 3310 mg/kg (oral, rat) (acetic acid)
Acute Exposure:	Acetic acid causes irritation of the respiratory system, liquid may cause eye and skin damage; ingestion may cause burning, nausea, vomiting. The paralytic shellfish toxins cause paresthesia (numbness), paralysis, respiratory arrest.
Chronic Exposure:	Eye, lung and skin damage.
Carcinogenicity/Teratogenicity/ Mutagenicity/Reproductive Toxicity:	No information available. The toxicological properties of the paralytic shellfish toxins have not been thoroughly investigated.

SECTION VII FIRST AID MEASURES

Skin:	Drench affected skin with water. Remove all clothing and place it in the open air (wash before reuse). Obtain medical attention.
Eye:	Irrigate thoroughly with water for at least 15 minutes. Obtain medical attention.
Inhalation:	Obtain medical attention.
Ingestion:	Obtain medical attention.

SECTION VIII PREVENTATIVE MEASURES

Personal Protective Equipment:	Gloves, safety goggles, plastic apron, sleeves and boots as appropriate.
Storage Requirements:	Store in the dark in a refrigerator at 4°C.
Handling Procedures and Equipment:	Avoid contact with eyes, skin and clothing. Avoid inhalation of vapours. Avoid prolonged or repeated exposure. Wash thoroughly after handling.
Leak or Spill Clean-up:	Wipe with plenty of water and run to waste, diluting greatly with running water. .

SECTION IX PREPARATION INFORMATION

Prepared by:	Certified Reference Materials Program National Research Council Canada Institute for Marine Biosciences Halifax, Nova Scotia Canada
Date:	September 1999

This material is for research and experimental applications only. It is not intended for food, drug, household, agricultural or cosmetic use. Its use must be supervised by technically qualified individuals with experience in the handling of potentially hazardous chemicals. The hazardous components are present in such low quantities that exact determination of degree of hazard is not warranted and would be misleading.

The above information is correct to the best of our knowledge. We do not purport that the information is all conclusive but merely serves as a guide. We shall not be held liable for any damage resulting from handling or from contact with the above product.

MATERIAL SAFETY DATA SHEET**STXdiHCl-C****SECTION I PRODUCT IDENTIFICATION**

MANUFACTURER'S NAME Certified Reference Materials Program
National Research Council Canada
Institute for Marine Biosciences
1411 Oxford Street
Halifax, Nova Scotia
B3H3Z1

EMERGENCY TELEPHONE: (902) 426-8280

PRODUCT NAME: Solution of Saxitoxin dihydrochloride in dilute hydrochloric acid

TRADE NAME: STXdiHCl-C

PRODUCT USE: For laboratory use only

SECTION II HAZARDOUS INGREDIENTS

CHEMICAL NAME	CAS NO.	CONCENTRATION
Hydrochloric Acid	7647-01-0	0.003M
Saxitoxin Dihydrochloride	35554-08-06	25 µg/mL

SECTION III PHYSICAL DATA

Physical State: Liquid

Appearance and Odour: Clear, colourless liquid with no odour

Specific Gravity: 1.0

Vapour Pressure: Not determined

Vapour Density: Not determined

Evaporation Rate: Not determined

Boiling Point: Not determined

Freezing Point: Not determined

pH: 2.6

Coefficient of Oil/Water Distribution: Not determined

SECTION IV FIRE AND EXPLOSION HAZARDS

Conditions of Flammability:	Not flammable
Flash Point:	Not applicable
Extinguishing Media:	Use extinguishing media appropriate for surrounding fire: water, carbon dioxide or foam
Hazardous Combustion Products:	Not applicable
Explosion Data:	Not applicable

SECTION V REACTIVITY DATA

Stability:	Stable under conditions of use and storage.
Incompatibilities:	Most metals, metal oxides, alkali, cyanides, sulfides, sulfites, formaldehydes.
Hazardous Decomposition Products:	Hazardous polymerization will not occur. Fumes from hydrogen chloride and hydrogen in contact with metals, chlorine from oxidizers; toxic and irritating vapours

SECTION VI TOXICOLOGICAL PROPERTIES

The health hazards given for hydrochloric acid in this data sheet applies to concentrated solutions. The hazards of dilute solutions may be reduced. The degree of hazard for reduced concentrations is not currently available in the literature.

Route of Entry:	
• Skin Contact:	Toxic and corrosive
• Skin Absorption:	Toxic and corrosive
• Eye Contact	Toxic and corrosive
• Inhalation	Toxic and corrosive
• Ingestion	Toxic and corrosive
LD ₅₀ :	263 µg/kg (oral, mouse) (saxitoxin) 10 µg/kg (i.p., mouse) (saxitoxin) 900 mg/kg (oral, rat) (hydrochloric acid)
Acute Exposure:	Contact with hydrochloric acid causes corrosive eye and skin damage resulting in redness, pain and severe skin burns. Inhalation of vapors can cause immediate pain and burns of the nose, throat and upper respiratory tract. Ingestion can cause immediate pain and burns to the mouth, throat, esophagus and gastrointestinal tract. Ingestion of saxitoxin dihydrochloride causes paresthesia (numbness), paralysis, respiratory arrest.
Chronic Exposure:	Possible erosion of teeth. Persons with pre-existing medical conditions such as eye or skin problems or chronic respiratory disease may be more susceptible to the effects of concentrated hydrochloric acid. No information is available on the long-term exposure to saxitoxin dihydrochloride.
Carcinogenicity/Teratogenicity/ Mutagenicity/Reproductive Toxicity:	No information available. The toxicological properties of the paralytic shellfish toxins such as saxitoxin dihydrochloride have not been thoroughly investigated.

SECTION VII FIRST AID MEASURES

Skin:	Drench affected skin with water for at least 15 minutes. Remove all clothing and place it in the open air (wash before reuse). Obtain medical attention.
Eye:	Irrigate thoroughly with water for at least 15 minutes. Obtain medical attention.
Inhalation:	Remove to fresh air or ventilated area. Obtain medical attention.
Ingestion:	Do not induce vomiting. Give large quantities of water. Never give anything by mouth to an unconscious person. Obtain medical attention immediately.

SECTION VIII PREVENTATIVE MEASURES

Personal Protective Equipment:	Protective clothing; gloves, safety goggles.
Storage Requirements:	Store in the dark in a refrigerator at 4°C.
Handling Procedures and Equipment:	Avoid contact with eyes, skin and clothing. Avoid inhalation of vapours. Avoid prolonged or repeated exposure. Wash hands thoroughly after handling.
Leak or Spill Clean-up:	Wipe with plenty of water and run to waste, diluting greatly with running water. .

SECTION IX PREPARATION INFORMATION

Prepared by:	Certified Reference Materials Program National Research Council Canada Institute for Marine Biosciences Halifax, Nova Scotia Canada
Date:	October 1999

This material is for research and experimental applications only. It is not intended for food, drug, household, agricultural or cosmetic use. Its use must be supervised by technically qualified individuals with experience in the handling of potentially hazardous chemicals. The hazardous components are present in such low quantities that exact determination of degree of hazard is not warranted and would be misleading.

The above information is correct to the best of our knowledge. We do not purport that the information is all-conclusive but merely serves as a guide. We shall not be held liable for any damage resulting from handling or from contact with the above product.

MATERIAL SAFETY DATA SHEET**B1****SECTION I PRODUCT IDENTIFICATION**

MANUFACTURER'S NAME Certified Reference Materials Program
National Research Council Canada
Institute for Marine Biosciences
1411 Oxford Street
Halifax, Nova Scotia
B3H 3Z1

EMERGENCY TELEPHONE: (902) 426-8280

PRODUCT NAME: Solution of Gonyautoxin-5 in dilute acetic acid

TRADE NAME: B1

PRODUCT USE: For laboratory use only

SECTION II HAZARDOUS INGREDIENTS

CHEMICAL NAME	CAS NO.	CONCENTRATION
Acetic acid	00064-19-7	0.1M
Gonyautoxin-5 (GTX-5) acetate	64296-25-9*	129 µg/mL

* CAS No. for free base form

SECTION III PHYSICAL DATA

Physical State: Liquid

Appearance and Odour: Clear, colourless liquid with a vinegar odour

Specific Gravity: 1.0

Vapour Pressure: Not determined

Vapour Density: Not determined

Evaporation Rate: Not determined

Boiling Point: Not determined

Freezing Point: Not determined

pH: 2.9

Coefficient of Oil/Water Distribution: Not determined

SECTION IV FIRE AND EXPLOSION HAZARDS

Conditions of Flammability:	Not flammable
Flash Point:	Not applicable
Extinguishing Media:	Compatible with water spray, foam, dry powder, carbon dioxide
Hazardous Combustion Products:	Not applicable
Explosion Data:	Not applicable

SECTION V REACTIVITY DATA

Stability:	Normally stable under conditions of use and storage
Incompatibilities:	Alkalies, carbonates, strong bases, strong oxidizing agents, most common metals (except aluminium), chromic acid, nitric acid, hydrogen peroxide, sulfuric acid
Hazardous Decomposition Products:	carbon dioxide, carbon monoxide

SECTION VI TOXICOLOGICAL PROPERTIES

Route of Entry:	
• Skin Contact:	Toxic and Irritates
• Skin Absorption:	Toxic
• Eye Contact	Toxic and Irritates
• Inhalation	Toxic and Irritates
• Ingestion	Toxic
LD ₅₀ :	155.2 µg/kg (i.p., mouse) (GTX 5) 3310 mg/kg (oral, rat) (acetic acid)
Acute Exposure:	Acetic acid causes irritation of the respiratory system, liquid may cause eye and skin damage; ingestion may cause burning, nausea, vomiting. Paralytic shellfish toxins cause paresthesia (numbness), paralysis, respiratory arrest.
Chronic Exposure:	Eye, lung and skin damage.
Carcinogenicity/Teratogenicity/ Mutagenicity/Reproductive Toxicity:	No information available. The toxicological properties of the paralytic shellfish toxins have not been thoroughly investigated.

SECTION VII FIRST AID MEASURES

Skin:	Drench affected skin with water. Remove all clothing and place it in the open air (wash before reuse). Obtain medical attention.
Eye:	Irrigate thoroughly with water for at least 15 minutes. Obtain medical attention.
Inhalation:	Obtain medical attention.
Ingestion:	Obtain medical attention.

SECTION VIII PREVENTATIVE MEASURES

Personal Protective Equipment:	Gloves, safety goggles, plastic apron, sleeves and boots as appropriate.
Storage Requirements:	Store in the dark in a refrigerator at 4°C.
Handling Procedures and Equipment:	Avoid contact with eyes, skin and clothing. Avoid inhalation of vapours. Avoid prolonged or repeated exposure. Wash thoroughly after handling.
Leak or Spill Clean-up:	Wipe with plenty of water and run to waste, diluting greatly with running water. .

SECTION IX PREPARATION INFORMATION

Prepared by:	Certified Reference Materials Program National Research Council Canada Institute for Marine Biosciences Halifax, Nova Scotia Canada
--------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Date:	September 1999
-------	----------------

This material is for research and experimental applications only. It is not intended for food, drug, household, agricultural or cosmetic use. Its use must be supervised by technically qualified individuals with experience in the handling of potentially hazardous chemicals. The hazardous components are present in such low quantities that exact determination of degree of hazard is not warranted and would be misleading.

The above information is correct to the best of our knowledge. We do not purport that the information is all conclusive but merely serves as a guide. We shall not be held liable for any damage resulting from handling or from contact with the above product.

**IBM**

Institut des biosciences marines

Page d'accueil

Interrogation

Plan du site

Contactez-nous

Site CNRC

Site Canada

English

Au sujet de l'IBM

Recherches

Publications

Nouvelles

Occasions d'affaires

Personnel

Centre d'information

PARI

Sites branchés

Programme des matériaux de référence certifiés

Intoxication amnestique par les coquillages

DACS-1C

DACS-1C est une solution d'étalonnage pour le dosage de l'acide domoïque, la toxine responsable de l'intoxication amnestique par les coquillages (IAC). DACS-1C remplace DACS-1B, les approvisionnements en lequel ont été complètement



épuisés par le printemps 1998. L'étalon est offert dans une trousse de quatre ampoules contenant une solution d'acide domoïque 0,5 mL (100 µg/mL) dans un mélange d'acétonitrile d'eau. La teneur en toxine se prête au dosage par chromatographie liquide à haute performance à détection en ultraviolet (HPLC-UVD).

CONTACTES

crm.imb@nrc.caou Denise LeBlanc,
Gestionnaire, PMRCProgramme des
matériaux de référence
certifiés, Institut des
biosciences marines
du CNRC,1411, rue Oxford,
Halifax (N.-É.)

CANADA B3H 3Z1

Téléphone :

(902) 426-8280

Télécopieur :

(902) 426-5426

MUS-1B

MUS-1B est un homogénat stérilisé à chaude de tissus de moule (*Mytilus edulis*) dont la teneur en acide domoïque est de 36 µg/g. MUS-1 est offert dans une trousse de quatre bouteilles contenant chacune, 8 g d'homogénat. Utilisé de concert avec le DACS-1C, ce MRC permettra d'assurer la fiabilité de vos dosages de l'acide domoïque.

MUS-1

Avec le lancement de MUS-1B, les provisions restantes de MUS-1, ont été retirées de la liste certifiée. Cependant, MUS-1 est encore disponible autant que matériel de recherches, soit en trousse de quatre bouteilles ou séparément. Chaque bouteille contient 15 g de tissus dont la teneur en acide domoïque est de 98 µg/g.

CNRC · NRC

MATERIAL SAFETY DATA SHEET**DACS-1C****SECTION I PRODUCT IDENTIFICATION**

MANUFACTURER'S NAME Certified Reference Materials Program
National Research Council Canada
Institute for Marine Biosciences
1411 Oxford Street
Halifax, Nova Scotia
B3H3Z1

EMERGENCY TELEPHONE: (902) 426-8280

PRODUCT NAME: Solution of domoic acid in water:acetonitrile (9:1)

TRADE NAME: DACS-1C

PRODUCT USE: For laboratory use only

SECTION II HAZARDOUS INGREDIENTS

CHEMICAL NAME	CAS NO.	CONCENTRATION
Acetonitrile	75-05-8	10% (in water)
Domoic Acid	14277-97-5	100 µg/mL

SECTION III PHYSICAL DATA

Physical State: Liquid

Appearance and Odour: Clear, colourless liquid with a slight ether-like odour

Specific Gravity: 0.98

Vapour Pressure: Not determined

Vapour Density: Not determined

Evaporation Rate: Not determined

Boiling Point: Not determined

Freezing Point: Not determined

pH: 6.6

Coefficient of Oil/Water Distribution: Not determined

SECTION IV FIRE AND EXPLOSION HAZARDS

Conditions of Flammability:	Not flammable
Flash Point:	Not applicable
Extinguishing Media:	Compatible with foam, dry powder, carbon dioxide
Hazardous Combustion Products:	Not applicable
Explosion Data:	Not applicable

SECTION V REACTIVITY DATA

Stability:	Normally stable under conditions of use and storage
Incompatibilities:	Strong acids, strong bases, strong oxidizing agents
Hazardous Decomposition Products:	Hydrogen cyanide, carbon monoxide, carbon dioxide, and nitrogen oxide

SECTION VI TOXICOLOGICAL PROPERTIES

Route of Entry:	
• Skin Contact:	Toxic and Irritates
• Skin Absorption:	Toxic
• Eye Contact:	Toxic and Irritates
• Inhalation:	Toxic
• Ingestion:	Toxic
LD ₅₀ :	3.6 mg/kg (i.p., mouse) (domoic acid) 3800 mg/kg (oral, rat) (pure acetonitrile)
Exposure Limits:	TLV/TWA 70 mg/m ³ (40 ppm) (pure acetonitrile)
Acute Exposure:	Inhalation and ingestion are harmful and may be fatal. Inhalation of acetonitrile may cause pulmonary edema and cyanosis. Other symptoms include headache, nausea, vomiting, dizziness, weakness, rapid ineffective breathing, low blood pressure, loss of consciousness or convulsions. Ingestion of domoic acid may cause nausea, headache, vomiting, and abdominal cramps and may be fatal. Neurological symptoms caused by domoic acid include confusion, memory loss and disorientation..
Chronic Exposure:	Serious damage to central nervous system, impaired vision, liver and kidney damage, anemia and lung irritation. Delirium, convulsions, paralysis, and coma.
Carcinogenicity/Teratogenicity/	No information available. The toxicological properties
Mutagenicity /Reproductive Toxicity:	of domoic acid have not been thoroughly investigated.

SECTION VII FIRST AID MEASURES

Skin:	Drench affected skin with water. Remove all clothing and place it in the open air (wash before reuse). Obtain medical attention.
Eye:	Irrigate thoroughly with water for at least 15 minutes. Obtain medical attention.
Inhalation:	Remove to fresh air. Obtain medical attention.
Ingestion:	Give large amounts of water and induce vomiting if person is conscious. Obtain medical attention.

SECTION VIII PREVENTATIVE MEASURES

Personal Protective Equipment:	Gloves, safety goggles, plastic apron, sleeves and boots as appropriate.
Storage Requirements:	Store in the dark in a freezer (-12°C or lower).
Handling Procedures and Equipment:	Avoid contact with eyes, skin and clothing. Avoid inhalation of vapours. Avoid prolonged or repeated exposure. Wash hands thoroughly after handling.
Leak or Spill Clean-up:	Wipe with plenty of water and run to waste, diluting greatly with running water. Otherwise absorb on inert absorbent and transport to safe open area for atmospheric evaporation.

SECTION IX PREPARATION INFORMATION

Prepared by:	Certified Reference Materials Program National Research Council Canada Institute for Marine Biosciences Halifax, Nova Scotia Canada
--------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Date:	July 1998
-------	-----------

This material is for research and experimental applications only. It is not intended for food, drug, household, agricultural or cosmetic use. Its use must be supervised by technically qualified individuals with experience in the handling of potentially hazardous chemicals. The hazardous components are present in such low quantities that exact determination of degree of hazard is not warranted and would be misleading.

The above information is correct to the best of our knowledge. We do not purport that the information is all conclusive but merely serves as a guide. We shall not be held liable for any damage resulting from handling or from contact with the above product.

**IBM**

Institut des biosciences marines

Page d'accueil

Interrogation

Plan du site

Contactez-nous

Site CNRC

Site Canada

English

Au sujet de l'IBM

Recherches

Publications

Nouvelles

Occasions d'affaires

Personnel

Centre d'information

PARI

Sites branchés

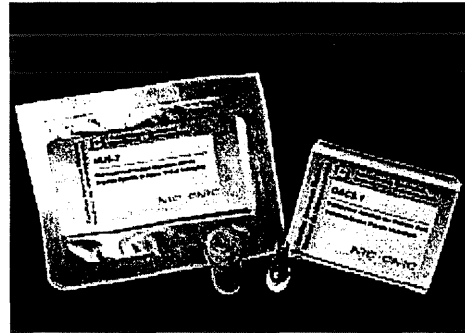
Programme des matériaux de référence certifiés

Intoxication diarrhéique par les coquillages

OACS-1

L'acide okadaïque (AO) est la toxine principale associée aux intoxications diarrhéiques par les coquillages. L'extraction et la purification de l'AO à partir de cultures à grande échelle de *Prorocentrum concavum* ont facilité la préparation d'une solution de référence pour le

dosage de l'acide okadaïque, l'OACS-1. Ce produit est présenté dans une trousse de quatre ampoules contenant chacune, 0,5 mL d'une solution d'acide okadaïque dans du méthanol, à une concentration de 25,3 µg/mL.



CONTACTES

crm.imb@nrc.ca
ou Denise LeBlanc,
Gestionnaire, PMRC

Programme des
matériaux de référence
certifiés, Institut des
biosciences marines
du CNRC,
1411, rue Oxford,
Halifax (N.-É.)
CANADA B3H 3Z1
Téléphone :
(902) 426-8280
Télécopieur :
(902) 426-5426

MUS-2

Suite au succès de l'OACS-1 un matériel de référence certifié (MRC) a été préparé pour le dosage des toxines associées aux intoxications diarrhéiques par les coquillages, de l'acide okadaïque et de la dinophysistoxine-1 (DTX-1). Il s'agit de MUS-2, un homogénat stérilisé à chaude de tissus des glandes digestives de la moule (*Mytilus edulis*) et de la microalgue *Prorocentrum lima*. MUS-2 est offert dans une trousse de quatre bouteilles de polypropylène contenant chacune, 4g d'homogénat ayant des taux d'AO et de DTX-1 de 11 et 1 µg/g respectivement. La teneur en toxines de ce MRC se prête au dosage par CLHP à détection par fluorimétrie utilisant la dérivation précolonne.

CNRC · NRC

MATERIAL SAFETY DATA SHEET**OACS-1****SECTION I PRODUCT IDENTIFICATION**

MANUFACTURER'S NAME Certified Reference Materials Program
National Research Council Canada
Institute for Marine Biosciences
1411 Oxford Street
Halifax, Nova Scotia
B3H3Z1

EMERGENCY TELEPHONE: (902) 426-8280

PRODUCT NAME: Solution of okadaic acid in methanol

TRADE NAME: OACS-1

PRODUCT USE: For laboratory use only

SECTION II HAZARDOUS INGREDIENTS

CHEMICAL NAME	CAS NO.	CONCENTRATION
Methanol	67-56-1	pure
Okadaic Acid	78111-17-8	25.3 µg/mL

SECTION III PHYSICAL DATA

Physical State: Liquid

Appearance and Odour: Clear, colourless liquid with characteristic pungent odour

Specific Gravity: 0.79

Vapour Pressure: 96 mm Hg

Vapour Density: 1.11

Evaporation Rate: Not determined

Boiling Point: 65°C

Freezing Point: -98°C

pH: Not determined

Coefficient of Oil/Water Distribution: Not determined

SECTION IV FIRE AND EXPLOSION HAZARDS

Conditions of Flammability:	Flammable
Flash Point:	12°C (closed cup)
Extinguishing Media:	Compatible with foam, dry powder, carbon dioxide
Hazardous Combustion Products:	Carbon monoxide, carbon dioxide, formaldehyde
Explosion Data:	Vapours may flow along surfaces to distant ignition sources and flash back. Closed containers exposed to heat may explode. Contact with strong oxidizers may cause fire. Burns with a clear, almost invisible flame.

SECTION V REACTIVITY DATA

Stability:	Normally stable under conditions of use and storage
Incompatibilities:	Strong oxidizing agents, strong acids, aluminium
Hazardous Decomposition Products:	Carbon monoxide, carbon dioxide, formaldehyde

SECTION VI TOXICOLOGICAL PROPERTIES

Route of Entry:	
• Skin Contact:	Toxic and Irritates
• Skin Absorption:	Toxic
• Eye Contact:	Toxic and Irritates
• Inhalation:	Toxic and Irritates
• Ingestion:	Toxic
LD ₅₀ :	5628 mg/kg (oral, rat) (methanol)
Exposure Limits:	TLV/TWA 260 mg/m ³ (200 ppm) for methanol
Acute Exposure :	Inhalation and ingestion are harmful. May cause skin and eye irritation. Ingestion of methanol may cause blindness or fatality. Ingestion of okadaic acid may cause gastrointestinal disturbances such as diarrhea, nausea, vomiting and abdominal pain.
Chronic Exposure:	Okadaic acid is a possible tumour promoter. Prolonged skin contact with methanol may result in dermatitis and/or kidney damage. Okadaic acid is a possible tumour promoter.
Carcinogenicity/Teratogenicity/ Mutagenicity/ Reproductive Toxicity:	No information available. The toxicological properties of okadaic acid have not been thoroughly investigated, although it is suspected of being a tumour promoter.

SECTION VII FIRST AID MEASURES

Skin:	Drench affected skin with water. Remove all clothing and place it in the open air (wash before reuse). Obtain medical attention.
Eye:	Irrigate thoroughly with water for at least 15 minutes. Obtain medical attention.
Inhalation:	Remove to fresh air. Obtain medical attention.
Ingestion:	Wash out mouth with water provided person is conscious. Obtain medical attention.

SECTION VIII PREVENTATIVE MEASURES

Personal Protective Equipment:	Gloves, safety goggles, plastic apron, sleeves and boots as appropriate.
Storage Requirements:	Store in the dark, in a freezer (-12°C or lower)
Handling Procedures and Equipment:	Avoid contact with eyes, skin and clothing. Avoid inhalation of vapours. Avoid prolonged or repeated exposure. Wash thoroughly after handling.
Leak or Spill Clean-up:	Wipe with plenty of water and run to waste, diluting greatly with running water. Otherwise absorb on inert absorbent and transport to safe open area for atmospheric evaporation.

SECTION IX PREPARATION INFORMATION

Prepared by:	Certified Reference Materials Program National Research Council Canada Institute for Marine Biosciences Halifax, Nova Scotia Canada
--------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Date:	September 1997
-------	----------------

This material is for research and experimental applications only. It is not intended for food, drug, household, agricultural or cosmetic use. Its use must be supervised by technically qualified individuals with experience in the handling of potentially hazardous chemicals. The hazardous components are present in such low quantities that exact determination of degree of hazard is not warranted and would be misleading.

The above information is correct to the best of our knowledge. We do not purport that the information is all conclusive but merely serves as a guide. We shall not be held liable for any damage resulting from handling or from contact with the above product.

COUERON, LE 07/02/01

Sedimo Pôle Assainissement et DIS
 Agence de Loire Atlantique - Exploitation de Nantes / Saint Nazaire
 Tél. : 02.40.38.00.56 Fax : 02.40.38.01.93

A l'attention de : **IFREMER**
 Rue de l'Île d'Yeu
 44300 NANTES
 A l'attention de Mme **BAUJARD Isabelle**
 (Fax : 02.40.37.40.01 - Tél. : 02.40.37.41.48)

Affaire suivie par **J. PILLEGREAU**

Nb/page(s) : 1

DEVIS/FAX
 Réf. : JP/MG/NA/02.01/D N° 081

COLLECTE ET DESTRUCTION DE TUBES FLUORESCENTS

NATURE

Prestations sur un lot de déchets industriels spéciaux dans le cadre suivant :

- . Collecte d'un fluobox (environ 300 unités) et transfert en centre agréé de destruction après rédaction d'un bordereau de suivi de déchets industriels
- **Montant FRS HT**..... 780.00 F
- . Fourniture d'un fluobox et destruction de son contenu (environ 300 unités)
- **Montant FRS HT**..... 1 420.00 F
- . Taxe Générale sur les Activités Polluantes
- **Montant FRS HT/la tonne** 60,00 F

(T.V.A. 19.6 % en sus.)

TRAVAUX NON COMPRIS







Tous les travaux non détaillés dans la présente proposition.

A votre disposition pour tous renseignements complémentaires qui vous seraient utiles et sensible à votre confiance, nous restons

Courtoisement vôtres.

Jacques PILLEGREAU
 Responsable Commercial



DIVERS			
Désignation du conditionnement	Photo	Homologation	Déchets
Boîte à piles		néant	■ Piles.
Kangourou petit modèle (1 litre) grand modèle (22 litres)		néant	■ Piles.
Big-Bag amiante		13H3/Y/(1)/F	■ Amiante.
Sac amiante 60l (600*1100) 130 µm 220 l (460*210*1700) 130 µm		néant	■ Amiante.
Emballage en PP alvéolé <i>d</i>			■ Tubes fluorescents.
Conteneur bois			■ Type a : tubes fluorescents ■ Type b : lampes.

SEDIMO
 Z.A. Les Hauts de Couéron
 44220 COUÉRON
 Tél. 02 40 38 00 56
 Fax 02 40 38 01 93
 SIRET : 344 263 702 00138

J. PILLEGREAU
 06 10 60 83 34