

Charte de fonctionnement du laboratoire de biologie moléculaire et de culture in vitro - Equipes DEP et GEE - Laboratoire ESE UMR8079 - Bâtiment IDEEV

27 octobre 2023

Table des matières

1	Introduction	3
1.1	Règles générales et bonnes pratiques de laboratoire	3
1.2	Règlement intérieur ESE et Services communs	5
1.3	Cahier de laboratoire	6
2	Fonctionnement du plateau technique mutualisé DEP-GEE	6
2.1	Organisation des différentes salles communes DEP - GEE	7
2.1.1	Laboratoire de préparation des milieux et tampons (pièce 2308)	7
2.1.2	Laboratoire de coulage des milieux (pièce 2340)	7
2.1.3	Laboratoire d'extraction d'acides nucléiques & Contrôle qualité (pièce 2140)	8
2.1.4	Laboratoire PCR & Électrophorèse (pièce 2201)	10
2.1.5	Salle stockage congélateurs (pièces 2330 et 2337)	13
2.1.6	Chambre froide (pièce 2138)	14
2.1.7	Salle stockage échantillons biologiques (pièce 2136)	14
2.2	Responsabilités du laboratoire mutualisé DEP - GEE	14
2.3	Modalité financière	14
2.4	Définition des équipements communs	15
2.4.1	Thermocycleurs et qPCR	15
2.4.2	Spectrofluorimètre et Qubit	15
2.4.3	Broyeur à billes - TissueLyser II	15
2.4.4	Centrifugeuse	16
2.4.5	Bain-marie	16
2.4.6	Incubateur et hotte à flux laminaire	16
2.4.7	pH-mètre, balances et agitateur magnétique	17

2.4.8	Thermosoudeuse	17
2.4.9	Logiciel CodonCode	18
2.5	Stock général des consommables (pièce 2335)	18
2.6	Propreté des salles	19
3	Fonctionnement générale à l'échelle ESE	20
3.1	Azote liquide	20
3.2	Gestion des produits chimiques	20
3.3	Autoclave (pièce 2003)	20
3.4	Recyclage boites de cône vide	21

1 Introduction

Ce document est destiné à tous ceux qui travaillent dans les pièces du bâtiment dédiées aux expérimentations de culture *in vitro* et de biologie moléculaire des équipes DEP et GEE. Il est rendu accessible sur le site intranet du laboratoire ESE ([ici](#)) : **TECHNIQUE \Fonctionnement général \Laboratoire BM-CIV – Equipes DEP et GEE**

Ce document doit *impérativement* distribué à tout nouvel arrivant **par son responsable**.

Avant de manipuler, le nouvel arrivant lit le présent document et **appose sa signature sur un cahier de registre** tenu par la responsable du plateau mutualisé DEP-GEE : Aلودie Snirc (bureau 2320). Ceci vaut pour acceptation de l'ensemble du document à compter de la date mentionnée. L'adresse mail du nouvel arrivant est requis pour qu'il puisse être ajouté à la liste de diffusion BM-CIV afin d'assister aux réunions bimensuelles et pour être au courant des diverses informations liées à la vie du plateau technique.

Chaque personne doit se sentir **RESPONSABLE** de sa propre sécurité, mais aussi de celle des **AUTRES**, ainsi que de la qualité de son espace de travail. Chacun se doit donc de se tenir informé des règles de fonctionnement du laboratoire et de les respecter, dans l'intérêt de l'ensemble de la communauté. Ne pas hésiter à s'adresser aux divers responsables mentionnés dans ce document, qui sont prêts à répondre aux questions et aux sollicitations relevant de leur domaine de compétence.

Vous travaillez **sous la responsabilité d'un chef d'équipe**. En tant que **formateur**, sa mission consiste à vous indiquer les bonnes pratiques de laboratoire. Dans le doute, vous lui demandez conseil, ensuite, vous vous renseignez auprès des référents du laboratoire ([sous-section 2.2](#)) ou des personnes compétentes en Hygiène et Sécurité de l'ESE.

1.1 Règles générales et bonnes pratiques de laboratoire

La formation initiale des nouveaux arrivants, permanents et non permanents, est **obligatoire**. Elle est assurée par le (ou les) responsable(s) de l'équipe de recherche d'accueil ou par un membre de l'équipe déjà formé et désigné par le (ou les) responsable(s). Les "référents" désignés dans la liste du chapitre suivant ([sous-section 2.2](#)) ont pour responsabilité de faire respecter et de réexpliquer, si nécessaire, les consignes de fonctionnement du laboratoire et des appareils, qui vous ont été communiquées par votre formateur. Vous devez vous adresser à eux en cas d'incertitude.

Les règles de bases sont les suivantes :

- les fenêtres des zones de travail doivent être fermées pendant le travail. Il est interdit de boire, de manger, de fumer, d'utiliser des produits cosmétiques ou d'entreposer de la nourriture dans les zones de travail,

- lorsque vous êtes le dernier à quitter une pièce, éteindre les lumières,
- lire les informations affichées dans les pièces de manipulation, sur les appareils, sur les produits chimiques (étiquettes et symboles de risques) et suivre les instructions et protocoles,
- mettre des gants pour toute réalisation d'expérimentation (sauf lorsque cela implique l'utilisation d'alcool combiné à une source de chaleur. Le risque de brûlure est élevé),
- en cas d'utilisation de matériel toxique ou cancérigène ou de microorganismes, le port de gants, d'une blouse de laboratoire ou de tout autre vêtement ou accessoire de protection est obligatoire dans les locaux de travail. Ceci signifie concrètement que :
 - * les gants contaminés par du matériel toxique ou cancérigène ou par des microorganismes doivent être placés dans les conteneurs de recyclage dévolus à cet effet et remplacés immédiatement ;
 - * **lors de l'utilisation de gants, il faut veiller à ne pas disséminer des organismes ou des substances dangereuses en téléphonant, en ouvrant tous types de portes, en utilisant les robinets, etc. ;**
 - * les vêtements de protection doivent être enlevés avant de quitter les zones de travail ;
 - * les gants ne doivent pas être portés à l'extérieur des laboratoires.
- les blouses sales sont à déposer dans le bac à linge dévolu à cet effet (présent dans les pièces de laboratoires spécifiques aux équipes DEP et GEE).
- il est interdit d'utiliser des pipettes à bouche ; il y a lieu d'utiliser des auxiliaires de pipetage,
- l'utilisation d'aiguilles hypodermiques et de seringues doit être limitée au minimum indispensable ; après emploi, elles doivent être éliminées de manière appropriée (contenant jaune avec couvercle rouge),
- lors de toutes les manipulations, il faut veiller à éviter autant que possible la production d'aérosols,
- il convient de se laver soigneusement les mains une fois le travail terminé et avant de quitter la zone de travail (se laver les mains avant d'aller manger, de prendre un café, un gâteau, un chocolat, le téléphone, etc.),
- les zones de travail doivent être parfaitement propres et en ordre. Les postes de travail doivent être désinfectés selon le concept d'hygiène avant et après leur utilisation. Les paillasses ne doivent comporter que les appareils et le matériel effectivement employés. Les réserves ne sont stockées que dans les zones ou les armoires prévues à cet effet.
- le nettoyage des salles est à la charge des utilisateurs. Le responsable de la salle organise un planning de ménage pour que les sols restent propres et veillent à sa bonne exécution.
- lors de l'utilisation de microorganismes, les travailleurs doivent être informés oralement et de manière concrète (en fonction de leurs connaissances) avant de commencer leur activité afin d'identifier leur potentiel pathogénicité,

- lors de toute utilisation d’organismes génétiquement modifiés (OGM), une déclaration d’utilisation ou une demande d’agrément d’utilisation doit être préalablement soumise à la Commission du Génie Génétique du Ministère de la Recherche. Chaque nouveau projet impliquant des OGM doit faire l’objet d’une déclaration d’utilisation si le classement est de niveau 1 ou avoir obtenu un agrément d’utilisation si le classement est de niveau 2 ou supérieur. La déclaration d’utilisation et l’agrément d’utilisation ont une validité d’une durée de 5 ans. Depuis janvier 2022, il faut au préalable obtenir à agrément de l’installation qui accueille des OGM. Pour plus de détails : <https://www.enseignementsup-recherche.gouv.fr/fr/nouvelle-reglementation-ogm-d-embarches-et-documents-en-vigueur-compter-de-janvier-2022-82564>
- il y a lieu de limiter autant que possible le dépôt et l’utilisation d’objets personnels (p. ex. sacs, téléphones portables, etc.) dans la zone de travail,
- les appareils ou matériels contaminés par des microorganismes potentiellement pathogènes doivent être autoclavés ou désinfectés avant d’être nettoyés,
- les déchets contenant des agents pathogènes et/ou des OGM doivent être collectés conformément aux directives du concept d’élimination et inactivés par autoclavage ou désinfection,
- si du matériel potentiellement pathogène et/ou toxique est répandu, la zone contaminée doit immédiatement être interdite d’accès et désinfectée et/ou nettoyée conformément aux normes de sécurité en vigueur. Les incidents significatifs du point de vue de la sécurité survenant au laboratoire doivent être déclarés aux agents de prévention,
- les indications concernant les premiers soins lors d’accidents impliquant des organismes pathogènes et/ou des produits toxiques doivent être à portée immédiate de mains dans la zone de travail. Tous les accidents doivent être signalés aux supérieurs hiérarchiques compétents et agents de prévention,
- vous devez contacter votre encadrant ou le responsable concerné pour le moindre problème et lorsque vous utilisez pour la première fois un appareil, un produit ou du matériel mis à disposition dans le laboratoire ou pour signaler un dysfonctionnement ou pour toute information.

1.2 Règlement intérieur ESE et Services communs

En plus de ce document, votre responsable doit vous fournir le règlement intérieur du laboratoire qui est disponible sur l’intranet du site ESE ([ici](#)). Il contient une autre partie liée à l’hygiène et sécurité que vous devez également lire. N’hésitez pas à le demander à votre responsable.

Mail du 4 août 2022 des AP : *Concernant les contenants à déchets de produits chimiques de laboratoire au sens large (PCL, DASRI, ...), des contenants vides (seaux, bisons, etc.) et des étiquettes à y apposer sont à disposition dans la salle 2341. Accès sur clef uniquement pour l’instant. Les contenants pleins sont à descendre par chacun dans la salle 0111 du RdC, ne pas les mettre en 2341. La salle 0111 est dans le couloir sur la gauche de l’escalier central*

quand on a les monte-charges dans le dos. Pensez à bien remplir les étiquettes autocollantes avec le type de produit, l'équipe et l'unité car le local 0111 est commun aux trois UMR et en cas d'interrogation, nous pourrons savoir à qui poser des questions. Nous disposons de l'équivalent d'une armoire et demi, soit 3 portes, qui sont étiquetées ESE dans cette salle. Rapprochez-vous des AP quand la capacité de stockage de la 0111 commence à manquer.

L'ensemble des questions liées à l'Hygiène et Sécurité doit être adressées aux deux agents de préventions (AP) : Paola Bertolino et Christophe Hanot. Ces personnes sont en charge, notamment, de la gestion et l'évacuation des déchets chimiques et biologiques.

Par ailleurs, le laboratoire possède un service dit *commun* à l'échelle de l'ESE. Il comprend, entre autres, une laverie avec autoclave et une salle de balance. Son fonctionnement est également résumé dans un autre document disponible sur l'intranet : **Gestion Ressources \Fonctionnement général \Services communs**.

Il est important de le lire afin de connaître, en autres, les jours de fonctionnement de l'autoclave.

1.3 Cahier de laboratoire

Le cahier de laboratoire est un outil multiple et complet, au service de toutes les facettes de la recherche. C'est l'un des outils quotidiens de tous ceux qui réalisent des travaux de recherche (chercheurs, ingénieurs, techniciens, thésards, stagiaires...). Il leur permet d'enregistrer au jour le jour tous leurs travaux : il rend compte du cheminement et de l'expérimentation scientifique, de l'idée à la conclusion. Le cahier de laboratoire est d'abord et avant tout un moyen d'assurer la traçabilité des travaux de recherche, composante reconnue des bonnes pratiques de recherche.

Au sein de l'unité, les cahiers de laboratoire neuf sont à demander à Patricia Le Thuaut (bureau 2021).

2 Fonctionnement du plateau technique mutualisé DEP-GEE

Les équipes de recherche DEP et GEE partagent leurs ressources (humaine et financière) dans la gestion de leur laboratoire de biologie moléculaire et de culture in vitro. Cela se traduit par la mutualisation de certaines pièces d'expérimentation et d'équipements scientifiques. De manière général, chaque laboratoire mutualisé possède des meubles sous paillasse qui sont destinés prioritairement au stockage des accessoires des appareils qui équipent ces pièces. Les meubles qui seront laissés vides pourront être dédiés aux stockages spécifiques des équipes utilisatrices sous réserve d'une identification claire et lisible pour éviter, sur le long terme, l'abandon et l'accumulation de matériel.

2.1 Organisation des différentes salles communes DEP - GEE

2.1.1 Laboratoire de préparation des milieux et tampons (pièce 2308)

Ce laboratoire contient un ensemble d'équipements et de produits chimiques qui sont soit mutualisés entre les 2 équipes (label DEP-GEE) soit spécifiques à l'une ou l'autre des équipes. Il convient de respecter cette différenciation pour travailler en harmonie.

Les équipements mutualisés entre DEP et GEE sont les suivants :

- un pHmètre dont l'électrode doit constamment être plongé dans un milieu KCl
- deux balances
- un agitateur magnétique chauffant pour homogénéiser vos tampons
- un four micro-onde
- deux armoires de stockage de produits chimiques (une de couleur rouge et l'autre jaune). Les produits chimiques à l'intérieur sont soit mutualisés ou spécifiques (cf le label sur le contenant)
- une armoire (celle de gauche) contenant de la verrerie partagée (DEP-GEE)
- un jeu de pipettes et d'un pipetboy
- un réfrigérateur

Les équipements appartenant spécifiquement à l'une des deux équipes sont :

- une petite armoire de produits chimiques (type poudre) sur pied = équipe GEE-champi
- une armoire de verrerie (celle de droite) où chaque équipe dispose d'un espace spécifique au stockage de sa propre verrerie

Après manipulation, l'utilisateur nettoie sa verrerie et les ustensiles de pesées ou tous autres éléments (lavage manuel à l'évier ou avec le lave-vaisselle de la laverie (pièce 2003) où se situe également une étuve de séchage) et s'assure de nettoyer correctement les appareils pour maintenir la propreté du lieu. L'utilisateur n'oublie surtout pas de récupérer sa vaisselle propre et sèche en laverie pour le restocker dans les armoires de verrerie pour les utilisateurs suivants.

2.1.2 Laboratoire de coulage des milieux (pièce 2340)

Ce laboratoire est destiné principalement au coulage des milieux de culture. Pour cela, une hotte à flux laminaire horizontale (Optigel 18, ADSLaminaire) est mise à disposition. Allumez la hotte au moins 15 min avant son utilisation pour établir un environnement de travail stérile.

La pièce dispose également d'une sorbonne connectée à une petite armoire de stockage de produits chimiques. La clé présente sur l'armoire ne doit en aucun cas être retirée car elle est nécessaire à son ouverture. Il est impératif d'identifier par le nom de son équipe tout produit chimique entreposé dedans.

Un incubateur à agitation orbitale (Inova 40R, New Brunswick Scientific) est présent pour réaliser vos cultures à la température et l'agitation requise. Il est nécessaire de réserver vos

créneaux d'utilisation à l'aide du planning mis à disposition en y indiquant votre température de consigne. Deux plateaux sont possibles en fonction du type de consommables ou de verreries utilisées pour vos cultures :

- un plateau plat avec un grip antidérapant
- un plateau métallique percé afin d'offrir de la modularité pour visser différents types d'accessoires : portoir pour microtubes ou pour tubes type falcon 15 et 50 mL et des anses pour fixer des erlenmeyers de flaconnage différent (250 mL, 500 mL...).

Il est possible d'interchanger les plateaux et de modulariser les accessoires grâce aux tournevis et clé disponible dans le meuble sous paillasse. Ces outils doivent impérativement rester à leur place. Un four micro-onde est disponible pour faire fondre vos milieux stockés dans les bouteilles de 1L.

La pièce dispose d'un seul type de poubelle, destinée à accueillir les déchets n'étant pas entré en contact avec du matériel biologique (papier absorbant, gant, emballage plastique).

Pour toutes les activités où vous manipulez du matériel biologique avec des niveaux de pathogénicité varié (C1 ou C2), **chaque équipe dispose d'un PSM dans ses propres laboratoires**. Ainsi, les déchets biologiques générés sont entreposés dans les poubelles spécifiques correspondant à des sacs labellisés *autoclave* Il ne faut pas les remplir de plus de la moitié du sac. Ils devront subir un cycle de stérilisation (dit de décontamination) par autoclavage puis évacuer soit comme déchets ménagers soit comme DASRI en fonction du niveau du risque biologique de l'organisme. Tous objets pouvant potentiellement transpercer le sac (pointe, étaleur, inoculateur...) doivent être jetés dans des contenants intermédiaires type bouteille en plastique avant d'être jetés dans le sac d'autoclavage. Un stock de bouteilles en plastique est disponible dans la pièce 2340. Tout le monde peut contribuer au restockage en apportant leur bouteille vide.

Chaque personne qui génère des déchets biologiques à décontaminer **doit participer** à leur évacuation après le cycle d'autoclavage. Pour cela, les personnes se notent en binôme sur le planning en face de la salle laverie (pièce 2003). En général, la décontamination est lancée après les autoclaves du mardi matin et du vendredi matin mais cela peut-être adapté en fonction de la quantité à traiter ([sous-section 3.3](#)).

2.1.3 Laboratoire d'extraction d'acides nucléiques & Contrôle qualité (pièce 2140)

Ce laboratoire est à la disposition des usagers pour réaliser les extractions d'acides nucléiques (ADN/ARN) et de leur dosage par spectrométrie et par fluorescence. Vous devez impérativement nettoyer l'ensemble des postes après utilisation, y compris l'ensemble des équipements utilisés, à l'éthanol 70%. Cette pièce présente deux espaces de travail différenciés :

Zone extraction : Cet espace de travail représente les 3/4 de la pièce et comprend un ensemble d'équipements permettant d'effectuer des extractions. Trois bains marie sont disponibles (2 avec eau déminéralisé et 1 avec des blocs chauffant). Un mini-incubateur rotatif acheté par l'équipe champi (GEE) est disponible mais sous réserve d'en demander l'autorisation. Quatre modèles différents de centrifugeuses sont disponibles ([sous-sous-section 2.4.4](#)). Le mode d'emploi des machines se trouve à disposition dans la pièce (dans une boîte en carton du meuble sous paillasse où sont présents les accessoires pour le broyeur à billes). Néanmoins, votre encadrant doit vous en montrer le fonctionnement avant toute première utilisation. **Éteignez impérativement les appareils après utilisation.**

Un planning de réservation est mis en place pour éviter les chevauchements entre les différentes personnes qui manipulent dans cette pièce. Pensez à bien vous inscrire en avance pour vous assurer de la disponibilité des appareils. Pour cela, réservez les équipements dont vous aurez besoin en indiquant vos initiales sur le planning. Mettre en légende la correspondance de vos initiales avec votre nom complet pour que les personnes qui auraient besoin d'interagir avec vous concernant un appareil puisse vous reconnaître aisément.

Une sorbonne est présente dans cette pièce afin de réaliser l'ensemble des étapes impliquant l'utilisation de produits ou solvants toxiques nécessitant une extraction de l'air. Il est obligatoire de laisser la sorbonne vide et nettoyée après utilisation. Les déchets générés (solide ou liquide) doivent être traités de manière adéquate et rapidement pour éviter les déchets abandonnés sans propriétaire et qui peut produire des dégagements en continu dans la pièce. Veuillez vous rapprocher des agents de prévention pour la gestion de ces déchets. La sorbonne est connectée à une petite armoire de stockage de produits chimiques. La clé présente sur l'armoire ne doit en aucun cas être retirée car elle est nécessaire à son ouverture. Vous pouvez stocker les produits dont vous avez besoin pour vos manipulations dans cette petite armoire, à condition de les avoir impérativement identifiés avec le nom de son équipe.

Aucun matériel individuel ne doit être entreposé sur les paillasses en dehors de la période où vous travaillez, mais uniquement des meubles sous paillasse réservés à cet effet.

Des boîtes de gants et de papier absorbant sont à votre disposition dans cette pièce. **Remplacez-les lorsqu'elles sont vides !** Les gants se trouvent dans la pièce 2335 et le papier absorbant est géré par Patricia Le Thuaut (bureau 2021).

Après vos extractions, un poste de contrôle qualité de vos acides nucléiques se trouve dans la même salle.

Zone contrôle qualité : Le lecteur à plaque Synergy HT de la marque BIOTEK permet de réaliser toute une série d'expériences faisant appel à des mesures d'absorbance ou de fluorescence (spectrofluorimètre). L'appareil peut mesurer des absorbances entre 1 et 1000 nm. Il possède 4 filtres d'excitation (360/40 ; 485/20 ; 530/25 ; 645/40 nm) et d'émission (460/40 ; 528/20 ; 590/35 ; 680/30 nm) de fluorescence. Il est relié à un ordinateur portable où chaque équipe possède sa session de travail. Sur le bureau, les documents PDF sur le fonctionnement du lecteur et le logiciel Gen5 qui pilote la machine sont accessibles. Il est ainsi possible de

créer des protocoles spécifiques pour des expérimentations sortant du cadre du simple dosage d'acides nucléiques.

Il permet notamment de quantifier les acides nucléiques en absorbance sur le principe du Nanodrop en pouvant passer jusqu'à 16 échantillons en simultané ; avec la plaque Take3. En raison de son coût important (3000 €), il est demandé d'en prendre soin. La plaque se trouve dans une malette noire dans le premier tiroir du meuble sous pailasse à proximité de l'appareil. Le protocole simplifié est disponible, sous format papier, dans ce même tiroir, pour réaliser les quantifications par absorbance.

Il est également possible de réaliser des quantifications en fluorescence par plaque 96 échantillons sur cet instrument. Un protocole par défaut est disponible dans chaque session mais il est nécessaire de comprendre le fonctionnement du logiciel pour l'utiliser correctement.

Pour du dosage en fluorescence avec un petit débit, le Qubit4 est à votre disposition. Cet appareil a été acheté entre BIOM-DEP-GEE lors de la mutualisation 2022. L'achat des consommables (tubes et kits de dosage) est à la charge des personnes qui en auront besoin. Un protocole simplifié sur la préparation des réactifs est à côté de l'appareil. Veuillez-vous référer au protocole de votre kit de dosage pour doser correctement vos échantillons. En fonction de vos besoins, il existe des kits de dosage pour l'ADN double brin ou simple brin, de l'ARN ou des protéines. Renseignez-vous sur les possibilités du Qubit (<https://www.thermofisher.com/fr/fr/home/industrial/spectroscopy-elemental-isotope-analysis/molecular-spectroscopy/fluorometers/qubit.html>)

2.1.4 Laboratoire PCR & Électrophorèse (pièce 2201)

Cette pièce est scindée physiquement en deux parties : une première regroupe l'ensemble des thermocycleurs et la deuxième correspond au laboratoire d'électrophorèse.

1. Laboratoire PCR - 2201A

Cette pièce est équipée d'un parc de 7 thermocycleurs à effet peltier avec couvercle chauffant dont 3 ayant l'option gradient de température (autocollant indiquant cette option). Chaque instrument est accompagné d'un planning sur lequel vous devez vous inscrire pour l'utiliser. La réservation est, en effet, obligatoire et vous devez respecter l'heure et la durée de votre réservation. Lors de fortes affluences, n'hésitez pas à réserver vos créneaux en amont pour vous assurer de la disponibilité de la machine. Si vous avez besoin de beaucoup de machines, assurez-vous que cela ne pénalise pas les autres utilisateurs.

Les notices d'utilisation de chaque type de thermocycleur sont disponibles dans le premier tiroir du meuble sous pailasse. Néanmoins, vous devez être accompagné de votre encadrant pour toute première utilisation de l'un ou l'autre type de thermocycleur.

Vos plaques et tubes destinés à la PCR doivent impérativement être scellés avant de pénétrer dans la pièce, et doivent rester sceller jusqu'à leur sortie de la pièce. Plaques

et/ou tubes doivent être parfaitement identifiables par vos initiales inscrites au marqueur noir indélébile.

Lors de la programmation de vos cycles de température, nommer votre programme en commençant par utiliser vos initiales afin que celui-ci soit indentifiable. Un ménage dans les programmes des machines est effectué une fois par an. Il est demandé que vous effaciez régulièrement vos programmes inutilisés (lors de départ d'étudiants, notamment) en faisant attention de ne pas supprimer l'ensemble des programmes de la machine.

D'autre part, les thermocycleurs ne doivent pas être déplacés et vous devez éteindre la machine que vous avez utilisée lorsque vous retirez votre PCR. Le couvercle doit être rabattu pour éviter le dépôt de poussières en suspension dans l'air à l'intérieur des platines. En fin de cycle de PCR, et si vous ne pouvez pas directement récupérer vos produits de PCR (par exemple, lorsque, exceptionnellement, vous lancez une PCR en fin de journée et que vous ne la récupérez que le matin suivant), il est possible d'introduire une étape qui maintien les produits de PCR à une température donnée. Afin d'optimiser la durée de vie des thermocycleurs, cette température ne doit pas être inférieure à 10°C.

RT-PCR ou qPCR : Le laboratoire est équipé d'une RT-PCR Step-one Plus (Applied Biosystems) permettant de réaliser des expériences de quantification absolue ou relative d'ADN ou d'expression de gènes. Pour toutes utilisations, veuillez vous rapprocher de Fanny Hartmann, qui en est la responsable de cet équipement.

2. Laboratoire Électrophorèse - 2201B

Cette pièce est destinée à réaliser l'ensemble des expériences liées à la révélation des produits PCR, à la découpe sur gel... En terme d'hygiène et sécurité, il s'agit d'une des pièces les plus sensibles. **L'utilisation de l'intercalant d'acides nucléiques (ici, le gelRed) doit impérativement rester confiné à cette pièce en raison de ces propriétés potentiellement CMR (cancérogène, mutagène et toxique pour la reproduction).**

Cette pièce est découpée en plusieurs zones : un espace de préparation des gels, un espace de migration avec les cuves électrophorèses, une zone de capture des images de gel. Il est impératif d'avoir une blouse dédiée à la salle des gels et qui ne sortira pas de cette pièce. Par ailleurs, les gants utilisés dans cette pièce doivent impérativement être retirés en sortant de ce labo.

Le matériel et les places de paillasse sont mutualisés. Chaque utilisateur est responsable de la propreté sur la paillasse et des appareils qu'il a utilisés. Cela se traduit par le fait qu'il doit s'assurer immédiatement après utilisation :

- de la propreté de la paillasse,

- du nettoyage et du rinçage du matériel (Erlen, éprouvettes, etc. . .) et des parties amovibles de la cuve, du rangement du matériel et des produits (cuves, boites de cônes, poubelles de paillasses, ciseaux, marqueurs, etc. . .),
- du réapprovisionnement éventuel du petit matériel ou des produits utilisés (gants, papier absorbant, kleenex, bleu de charge, TAE 0,5X, eau désionisée, boites de cônes, scotch, etc. . .),

Chaque usager utilise le bleu de charge qu'il a lui-même préalablement préparé ou acheté. Celui-ci ne doit jamais rester en permanence sur les paillasses de la salle des gels. Il doit être identifiable aisément (type de solution de charge + vos initiales ou équipe).

Le réapprovisionnement des bidons de TAE 0,5X se fait à partir des bouteilles de solution mère de TAE 50X en prenant soin de prendre d'abord les plus anciennes. La bouteille en cours reste stockée sur l'étagère à proximité direct du bidon de TAE 0,5X. Les bouteilles vides de solution mère doivent être rincées, le témoin d'autoclave retiré, et rapportées dans la salle laverie (2003).

En plus des cuves classiques d'électrophorèse (avec des formats différents, dans les meubles sous paillasse), nous disposons d'un Pippin Pulse, qui est un système d'électrophorèse en champ pulsé FIGE (Field Inverted Gel Electrophoresis) de la société Sage Science. Il est principalement utilisé pour le contrôle qualité de grands fragments d'ADN ou d'ADN natifs en amont du séquençage MinION. Les gels sont au format 14×12 cm en agarose SeaKem Gold (coût très élevé, attention) ou équivalent. Les tampons de migration sont soit le TBE ou le KBB de Sage Science. Le dépôt est d'au moins 200 ng d'ADN.

Gestion des déchets

Un stock de sceaux / bidons est disponible dans la pièce. Si ce n'est pas le cas, merci de réapprovisionner pour le collectif. Pensez à étiqueter les sceaux et les bidons suivant les **indications présentes sur la porte de la pièce**. Le stock général se trouve dans la pièce 2341, qui est fermée à clé. Quand le stock général diminue, prévenir l'AP pour le réassort auprès du service hygiène et sécurité de l'université.

Il y a 3 types de déchets :

- Petites poubelles blanches sur la paillasse : "Gels d'agarose contaminés GelRed " **étiquette UN2811**
- Grandes poubelles blanches sous la paillasse : "Gants + Papiers absorbants contaminés GelRed " **étiquette UN3175**
- Bidon sur la paillasse : "Solution usagée TAE 0,5X" **étiquette UN2810**

Lorsque les sceaux ou les bidons sont pleins, fermez-les avec les couvercles ou bouchon adéquates. Ajoutez l'étiquette appropriée en indiquant au marqueur ESE - UMR8079. Chacun doit participer au collectif en prenant l'initiative de descendre les bidons et

sceaux au rdc au niveau de la salle 0111 ([sous-section 1.2](#)). Une affiche sur la porte de la pièce d'électrophorèse récapitule les instructions.

Capture d'image de gel électrophorèse

Le système de capture de gel est directement relié au réseau du laboratoire. Cet appareil génère des photos numériques qui sont récupérées dans un dossier accessible par le réseau ESE. Pour toute première utilisation, suivre cette procédure pour connecter votre ordinateur au dossier commun de photo. Au préalable, votre ordinateur doit être impérativement connecté au réseau ESE via une adresse IP fixe (adressez-vous auprès de Nicolas Moulonguet pour en obtenir une).

Procédure de récupération des photos :

- **sur mac :**
 - (a) Allez dans Finder
 - (b) Allez puis Connectez-vous au serveur
 - (c) Entrez l'adresse smb ://172.24.28.158 puis se logger avec l'identifiant : **User** et mdp : **esegee**. Choisir Genosmart. Vous tombez sur le dossier SYGFN1100 dans lequel se trouve les photos.
- **sur PC :**
 - (a) Faire un clic droit sur le poste de travail, choisir "Connecter à un reseau"
 - (b) Choisir un autre lecteur que le Z (Y, X ou autre) et dans dossier, entrer \\172.24.28.158\genosmart. Cliquez sur Terminer.
 - (c) Une fenêtre de logging apparait. Entrez l'identifiant : **User** et **mdp : esegee**. Mémorisez vos identifiants.
 - (d) Vous avez accès au dossier SYGFN1100.
- **sur Linux :**
 - (a) connectez-vous à l'adresse smb ://172.24.28.158/genosmart
 - (b) Entrez **User** et mdp : **esegee**.

Gestion des photos :

Pour éviter de saturer l'ordinateur hôte en données, veuillez récupérer vos photos sur votre propre ordinateur puis effacez-les du dossier commun SYGFN1100. Les photos restant plus de 3 mois dans ce dossier seront automatiquement effacées.

2.1.5 Salle stockage congélateurs (pièces 2330 et 2337)

A l'entrée de chacune des pièces (au niveau de l'affiche) est repris la répartition décidée avant le déménagement en fonction des besoins exprimées par les équipes. Avant d'ajouter un nouveau congélateur, il faut en informer l'ensemble des équipes concernées afin de se mettre d'accord.

Il faut identifier chaque congélateur pour trouver rapidement le responsable à alerter en cas de dysfonctionnement.

2.1.6 Chambre froide (pièce 2138)

A l'entrée de la chambre froide est indiquée la répartition des espaces entre les équipes concernées, à savoir BIOM-PEPA-DEP-GEE. Merci de respecter les espaces de chacun et de maintenir la chambre froide propre.

2.1.7 Salle stockage échantillons biologiques (pièce 2136)

Cette pièce est destinée à accueillir des échantillons biologiques pour conservation et pour culture. Il est impératif d'identifier les propriétaires des échantillons. Des étuves pourront être ajoutées à l'avenir, si nécessaire. Les arrivées d'air comprimées permettent de relier certains appareillages (étuves avec hygrométrie contrôlée...).

2.2 Responsabilités du laboratoire mutualisé DEP - GEE

Pièce	Désignation	Nom
	Management, gestion financière, commandes et maintenance	Alodie Snirc
2140	Laboratoire d'extraction & Contrôle qualité d'acides nucléiques DEP - GEE	Alodie Snirc & Amandine Labat
2201	Laboratoire PCR & Électrophorèse DEP - GEE	Alodie Snirc & Amandine Labat
2340	Laboratoire coulage des milieux DEP - GEE	Alodie Snirc & Amandine Labat
0103	Accès stockage Alcool	Olivier Chauveau ; Alodie Snirc & Amandine Labat

2.3 Modalité financière

Au début de chaque année, le budget global annuel est estimé en s'appuyant sur le coût de fonctionnement de base de l'année précédente. Ce coût comprend les deux types de dépenses principales : l'achat de consommables (type gants, tubes, plaques PCR, boîtes de Pétri, cônes de pipettes, produits chimiques...), l'achat et la maintenance des équipements. La participation forfaitaire est calculée en moyennant plusieurs indicateurs qui traduisent l'activité et la consommation générale (utilisation des thermocycleurs, gants, cônes, boîte de Pétri...) des 2 équipes utilisatrices. Ainsi, l'estimation de l'activité relative d'une équipe (exprimée en % de l'activité totale) d'une année N permet de définir sa participation forfaitaire au budget pour l'année N+1.

L'ensemble de ces éléments est discuté et validé lors d'une réunion BM au mois de janvier de chaque année.

Toute demande d'accès au labo BM-CIV doit être faite auprès de l'ensemble des responsables des équipes DEP et GEE et du labmanager.

2.4 Définition des équipements communs

La liste des principaux équipements mutualisés et dont la gestion financière est commune entre DEP et GEE est décrite dans le tableau ci-dessous. Ce qui implique une maintenance régulière et leur remplacement sauf sur les équipements coûteux qui devront être discuter collégialement.

Pièce	Désignation
2201	7x Thermocycleurs
2201	qPCR (StepOne Plus, AppliedBiosystem)
2140	Spectrofluorimètre en plaque (Synergy HT, Biotek)
2140	Qubit4 (Invitrogen)
2140	Broyeur à billes (TissueLyserII, Qiagen)
2140	4x Centrifugeuses (plaques Deepweel, 50 mL, 15 mL, 5 mL, 2 mL)
2140	2x Bains marie à eau et 1x bain marie sec
2308/2340	2x Fours à micro-onde
2340	Agitateur-incubateur (Inova 40R, New Brunswick Scientific)
2340	1 Hotte à flux laminaire horizontale (Optigel18, ADSLaminaire)
2308	1 pH-mètre, 2x balances et 1x agitateur magnétique

Une partie du parc d'instrumentations scientifiques a déjà été évoquée dans les sections précédentes. Pour le reste, une description est détaillée dans les paragraphes qui suivent.

2.4.1 Thermocycleurs et qPCR

[sous-sous-section 2.1.4](#)

2.4.2 Spectrofluorimètre et Qubit

[sous-sous-section 2.1.3](#)

2.4.3 Broyeur à billes - TissueLyser II

Pour toute première utilisation, vous devez vous former auprès de votre référent ou auprès d'une personne sachant l'utiliser. Cet appareil doit toujours être utilisé de manière **équilibrée** sur le même principe d'une centrifugeuse, sous peine de casser la machine.

Vous pouvez broyer du matériel biologique en utilisant plusieurs formats :

- 2 adaptateurs pour tubes 2 mL permettant de passer au maximum 48 échantillons.
- 2 adaptateurs pour plaque 96 permettant de broyer jusqu'à 196 échantillons.
- 2 bols de 10 mL pour broyer une plus grosse quantité d'un même échantillon.

Par ailleurs, l'ajout des billes pour broyer peut être semi-automatisée grâce à deux accessoires de distribution pour billes de taille 3 mm ou de 5 mm pour les plaques au format 96 puits. Respectez-bien les tailles demandées par accessoire sous peine de petites galères.

2.4.4 Centrifugeuse

Quatre centrifugeuses sont disponibles dans le laboratoire d'extraction ([sous-sous-section 2.1.3](#)) avec différents types de rotor :

- une centrifugeuse réfrigérée avec un rotor pour tube de 8 x 15 mL et un rotor pour tube de 6x 50 mL. Lors du changement du rotor, faites attention à le fixer correctement. Pour toute première fois, demandez à une personne compétente de vous montrer.
- une centrifugeuse Sigma par plaque type deep-well qui est essentiellement utiliser lors des extractions d'ADN en plaque 96 puits. A la fin de l'utilisation, nettoyez les godets (c'est-à-dire là où vous entreposez vos plaques), à l'eau distillée afin d'éliminer les traces de produits utilisés lors de l'extraction qui peuvent attaquer la matière du godet.
- deux centrifugeuses réfrigérée avec un rotor pour 24 x tubes 1,5 mL / 2 mL (VWR) / 48 x tubes 1,5 mL / 2 mL (Eppendorf) et un rotor pour tubes 10 x 5 mL (VWR) / 16 x 5 mL (Eppendorf). Le changement de rotor se fait avec la clé en T. Veuillez à utiliser le couvercle pour éviter les aérosols dans la centrifugeuse. Nettoyez à l'eau et séchez le avec un papier absorbant le joint qui se trouve entre le rotor et le couvercle.

A l'issue de l'utilisation de ces équipements, nettoyez-les à l'aide d'un papier absorbant imbibé d'eau et séchez avec un papier. Laissez les couvercles en position **basse** sans les fermer pour éviter la condensation à l'intérieur.

2.4.5 Bain-marie

Toujours vérifier le niveau d'eau avant chaque utilisation : le compléter avec de l'eau déminéralisée en cas de besoin. Lorsque vous constatez que la cuve du bain-marie ou l'eau qu'elle contient comportent des impuretés, changez l'eau et nettoyez la cuve, si nécessaire. Ajoutez le produit bleu (1 mL par litre d'eau) qui permet de prolonger la durée de vie de l'eau en ralentissant l'apparition de bactéries et de champignons. Mettre un papier avec son nom sur l'appareil (tout appareil allumé sans papier sera éteint) et ne pas laisser allumer au-delà du temps nécessaire à vos travaux.

2.4.6 Incubateur et hotte à flux laminaire

[sous-sous-section 2.1.2](#)

2.4.7 pH-mètre, balances et agitateur magnétique

- pH-mètre : En cas de doute, ne pas hésiter à lire le mode d'emploi à disposition à côté du pH-mètre ou à poser des questions aux personnes adéquates. L'électrode de mesure est ce qu'il y a de plus fragile. Elle doit être maintenue en dehors de la mesure dans son capuchon rempli par une solution de KCl. Il convient d'en remettre si le niveau baisse grâce à la bouteille de KCl présent à proximité. Des solutions acides et basiques sont disponibles pour ajuster le pH. Des solutions étalonnées sont également disponibles dans le meuble sous pailasse pour s'assurer du bon fonctionnement du pH-mètre. Après toute utilisation, il est impératif de nettoyer l'électrode avec de l'eau distillée et de la plonger dans un niveau suffisant de KCl.
- Balances : Des coupelles de pesée de différentes tailles sont disponibles ainsi que des spatules de pesée. A chaque fin d'utilisation, vous devez les nettoyer à l'éthanol 70°C et à l'eau désionisée (pissettes disponibles et à re-remplir quand elles sont vides). Pour les pesées, plusieurs types de balances sont à votre disposition dans cette pièce. Vérifier la propreté de la balance après chaque utilisation et la nettoyer si nécessaire. Les balances étant équilibrées, veuillez vérifier leur équilibrage et surtout ne les déplacez pas.
- Agitateur magnétique : Des barreaux aimantés de différentes tailles sont mis à disposition pour la préparation de vos solutions ainsi qu'une tige de récupération de barreau. Ce matériel est recensé pour minimiser les risques de disparition. Le nettoyage de ce petit matériel est obligatoire également (alcool + eau, voir machine à laver dans certains cas) Tout le petit matériel mis à la disposition de la communauté comme les spatules de pesée, les barreaux magnétiques, la tige magnétique (pour récupérer les barreaux) sont indispensables pour que cette pièce fonctionne correctement. Il s'agit également d'un matériel très sensible qui risque de disparaître très facilement. Par conséquent, toute disparition non expliquée se soldera par son non-remplacement (charge ensuite à chaque équipe d'avoir son propre matériel).

2.4.8 Thermosoudeuse

La thermosoudeuse permettant le scellage des plaques PCR ainsi que le matériel qui lui est lié (films thermocollants, ciseaux, pièce de tissu pour finaliser la soudure du film) ne doivent pas être déplacés. Les films thermocollants doivent impérativement rester dans leur pochette plastique avant usage. La manipulation des films thermocollants doit impérativement être effectuée avec des gants.

La thermosoudeuse ne doit pas rester allumée en permanence, ce qui réduirait considérablement sa durée de vie. Allumez-la 5 à 10 minutes avant usage et positionnez un papier avec votre nom sur l'appareil sur la thermosoudeuse pour qu'elle ne soit pas éteinte par erreur. Éteignez la thermosoudeuse dès que vous avez terminé de vous en servir (en prenant soin de demander auparavant si personne dans la salle n'en a encore l'usage). Si la thermosoudeuse est allumée en l'absence d'un papier nominatif, elle doit être éteinte par la personne qui le constate.

2.4.9 Logiciel CodonCode

Le laboratoire possède un logiciel pour analyser les séquences Sanger (nettoyage, consensus...) ainsi que les données type NGS dont la licence n'est plus renouvelée, mais le logiciel est encore fonctionnel. Il s'agit du logiciel Codoncode Aligner qui est téléchargeable en suivant le lien [ici](#).

Une version Mac et PC est disponible. Par contre, il ne fonctionne pas sous environnement Linux. Lors de la première installation sur votre ordinateur, il faut choisir l'option «**use server licence**» pour pouvoir accéder à notre licence. Faites attention à ce que votre ordinateur soit bien connecté au réseau internet du labo par un accès Ethernet (et non par le wifi) et qu'il possède de préférence une adresse IP fixe (sinon rapprochez vous de Nicolas Moulonguet).

L'adresse IP de l'ordinateur hôte est **172.24.28.158**.

2.5 Stock général des consommables (pièce 2335)

L'ensemble des consommables du plateau mutualisé se situe dans la **pièce 2335**. Le stockage du matériel/consommables spécifiques à chacune des équipes est possible dans la **pièce 2331**.

Tout retrait doit être mentionné sur la fiche de sortie des stocks présente sur le casier métallique, à droite en entrant dans la pièce. L'ensemble des consommables sont étiquetés au niveau des étagères par des chiffres. Une feuille récapitulative de l'ensemble des consommables est présente à côté de la fiche de sortie des stocks. Ainsi, vous pouvez vérifier la quantité de retrait minimal indiqué par type de produit. Vous pouvez directement reporter le chiffre du produit sur la feuille de retrait avec sa quantité. Il s'agit du stock général. Vous devez utiliser cette pièce pour ré-alimenter vos pièces de manips qui sont des lieux de stockage intermédiaire. Si vous constatez une erreur ou un problème de compréhension, n'hésitez pas à en informer le labmanager. Ce fonctionnement permet de suivre informatiquement le stock d'où la nécessité que les personnes comprennent bien cette procédure afin d'éviter les erreurs.

Concernant les laboratoires utilisées de manière commune entre DEP et GEE, les consommables (type gants) doivent être renseignés comme "commun" avec la pièce de destination sur la feuille de sortie de stock à la place de renseigner l'équipe.

Liste des consommables basiques :

- **Gants, papier absorbant** : Cinq tailles de gants en nitrile sont à votre disposition dans les salles de travail (du XS au XL). Le réapprovisionnement est à la charge des utilisateurs dès qu'une boîte est terminée. Le remplacement du rouleau de papier absorbant situé près des éviers est aussi à la charge des utilisateurs. Pour le papier absorbant, le stock est géré par Patricia Le Thuaut (bureau 2021).
- **Cônes et boîtes de cônes** : Les boîtes de cônes qui se trouvent sur les paillasse ne sont pas en libre service car elles font alors partie du matériel attribué à la paillasse. Les boîtes de cônes ne doivent pas être jetées à la poubelle. Une procédure de recyclage du plastique est mise en place au niveau du laboratoire ([sous-section 3.4](#)).

- **Tubes 0,2 à 5 ml** : Les pots en verre qui contiennent les tubes qui se trouvent sur les paillasse ne sont pas en libre service car ils font partie du matériel attribué à la paillasse. Lorsque vous terminez un pot, vous devez le remplir et placer ce pot sur les plateaux destinés à l'autoclave qui se trouvent en attente dans la pièce 2003 (laverie). Pensez à mettre un petit morceau de Scotch "témoin d'autoclave" sur le couvercle du pot (en ayant retiré l'ancien témoin au préalable) et en indiquant le nom de votre équipe afin d'identifier le matériel.
- **Plaques PCR et barrette de PCR** : Les boites de plaques PCR qui se trouvent sur les paillasse ne sont pas en libre service car elles font partie du matériel attribué à la paillasse.
- **Eau désionisée** : Chaque équipe choisit son mode de fonctionnement, à savoir achat d'eau désionisée stérile ou la préparation d'eau désionisée autoclavée : tirage de l'eau par le système de production d'eau déminéralisée, pour les éviers qui en sont équipés, dans une bouteille en verre qui sera stérilisée par autoclavage, puis aliquotage dans des tubes de plus petites contenances sous hotte à flux laminaire (pièce 2340).
- **Boites de Pétri** : Deux formats sont à disposition : 94 mm et 60 mm. Néanmoins, il reste un petit stock de boite de 145 mm et des boites de Pétri carré 120 x 120 mm, qui ne sera pas forcément recommandé une fois le stock fini.
- **Matériel individuel** : En dehors des fournitures communes, du matériel et des produits décrits ci-dessus, tout autre fourniture, matériel ou produit est à la charge de l'équipe de recherche dont vous dépendez (exemples : micro-pipettes, racks de rangements pour les tubes, produits, réactifs et enzymes nécessaires à la réalisation des PCR, Kits de clonage, etc. . .). Il est interdit d'utiliser ce matériel individuel sans l'autorisation express de son ou ses propriétaires.

Tout autre achat de consommables est envisageable si le besoin devient récurrent après discussion et validation lors d'une réunion.

2.6 Propreté des salles

Le responsable de la salle organise un planning de ménage pour que la salle reste propre. Un balai, un seau, une serpillère et du produit de nettoyage sont à disposition. Si tel n'était pas le cas, avertir le responsable de la salle. Le matériel et les produits de nettoyage doivent impérativement rester dans la salle. Une procédure de nettoyage est indiquée dans chaque salle.

Par ailleurs, plusieurs éviers sont à votre disposition dans les salles de manip. Il ne s'agit pas d'une zone de stockage. Les éviers doivent rester parfaitement propres et vides.

3 Fonctionnement générale à l'échelle ESE

3.1 Azote liquide

L'azote liquide est centralisée à l'arrière du bâtiment IDEEV pour les 3 UMR. Pour cela, il faut chercher une clé au 1er étage, dans un des labos de GQE (salle 1138) et noter la quantité prélevée sur le cahier (important pour la gestion financière). Puis, il faut descendre au rdc pour accéder à la salle 0117. Vous trouverez un protocole avec plus d'explications affiché sur la porte de la salle d'extraction.

Deux vases Deware sont disponibles dans cette même salle pour le transport. Vous devez être formé au puisage de l'azote par votre encadrant pour éviter tout risque d'accidents notamment de brûlure.

3.2 Gestion des produits chimiques

Le stockage de grosse quantité de produits chimiques se situe au rdc du bâtiment IDEEV qui disposent de plusieurs salles en fonction du type de produits (alcool, solvant, acides, bases...). Au 2ième étage, deux pièces sont disponibles pour le stockage dans des armoires sécurisées et ventilées. Chaque personne qui commande des produits chimiques doit les identifier (nom d'équipe ou autre). Il en assume la totale responsabilité en terme de gestion (stockage, utilisation) et d'évacuation (élimination adaptée des déchets chimiques). Ne pas hésitez à se rapprocher des AP du laboratoire pour toutes questions à ce sujet.

La gestion de l'éthanol absolu est soumis à un contrôle réglementaire des stocks "entrant" et "sortant". Par conséquent, l'accès de la soute est **limité** à un nombre restreint de personnes ([sous-section 2.2](#)). Veuillez-vous adresser à ces personnes pour tout besoin en éthanol absolu ou pour accéder à d'autres produits.

3.3 Autoclave (pièce 2003)

La stérilisation par autoclave est un service disponible pour l'ensemble des équipes de l'unité. Néanmoins, seules les personnes possédant un titre d'habilitation à la conduite et à la sécurité des autoclaves sont autorisées à manipuler l'autoclave horizontal (Matachana SC500). Une copie de ce titre d'habilitation doit avoir été préalablement fournie au responsable autoclave. La liste des personnes habilitées est affichée sur la porte d'entrée de la pièce. Le manuel d'utilisation de l'autoclave et le carnet de maintenance sont disponibles dans la pièce. Après chaque utilisation, le ticket de déroulement du processus de stérilisation fourni par la machine doit être collé dans le cahier de suivi situé au même endroit. Le ou la responsable de l'autoclave est en charge des aspects réglementaires et de la maintenance.

Le fonctionnement est basé sur le lancement de deux autoclaves hebdomadaires comme décrit ci-dessous ; le lancement des autoclaves est réparti entre le personnel des équipes DEP – GEE – DEEM. Pour être informé des personnes qui lancent l'autoclave, il suffit de consulter l'agenda mensuel présent sur le mur extérieur en face de la laverie.

Dépôt et reprise du matériel à autoclaver (cycles solides et liquides)

Des bacs sont à votre disposition pour y déposer votre matériel à autoclaver ainsi qu'un frigo pour stocker vos milieux en attente de stérilisation. Du scotch à autoclave est à disposition pour votre matériel qui doit être identifiable. Deux types de paniers permettent de faire un tri en fonction du type de matériel que vous avez à stériliser, solide ou liquide. **Pensez à reprendre régulièrement le matériel autoclavé dans les paniers en fer.** L'organisation des autoclaves suit des règles qui sont décrites dans les points suivants :

- Mardi matin = autoclave liquide et vendredi = autoclave solide
- pour qu'un autoclave soit lancé, il faut qu'au minimum un panier solide ou liquide soit rempli.
- si vous avez un besoin extrêmement urgent bien que l'autoclave ne soit pas rempli, **EXCEPTIONNELLEMENT**, un arrangement pourra être trouvé. Pour cela, voir avec une personne en charge de lancer l'autoclave.

De manière générale, il faut que vous anticipiez au maximum vos besoins pour éviter ces situations d'urgence.

Après stérilisation, les milieux sont en général déposés dans l'étuve pour maintenir cet état. Pensez à bien éteindre cet appareil pour éviter tout risque incendie.

Un petit autoclave sur pailleasse est disponible lorsque des petits volumes sont lancés. Chaque utilisateur peut le faire fonctionner sans habilitation. Au préalable, la personne doit être formée à son utilisation par une personne compétente.

A cela s'ajoute les autoclaves de décontamination des déchets de micro-organismes en vue de leur élimination. Ces autoclaves sont lancés en dehors des cycles classiques, à une température de 134°C. En général, un cycle de décontamination est lancé après un cycle classique (liquide ou solide) si trois sacs à éliminer sont présents dans la pièce. Les personnes générant des déchets biologiques doivent participer à leur évacuation. Pour cela, ils se notent sur le planning mensuel, en binôme de préférence, pour prendre en charge l'élimination des sacs décontaminés. En effet, à l'issue du cycle de décontamination, le binôme se charge d'évacuer soit comme déchets ménagers (en mettant les sacs décontaminés dans un sac de poubelle noire puis le descendre dans le local poubelle au rdc dans la pièce (0107) soit comme DASRI en fonction du niveau du risque biologique de l'organisme.

3.4 Recyclage boites de cône vide

Un carton destiné à récupérer les boites de cônes vides se trouve dans chaque pièce de manip, charge aux utilisateurs de l'installer si tel n'est pas le cas. Les boites de cônes doivent être impérativement mises de manière ordonnée et rangée dans les cartons. Une fois le carton rempli, il est demandé de le fermer et de les descendre au rdc, dans la pièce 0104 (salle -80°C), en attendant d'être recyclé. Lorsque dix cartons sont pleins, une demande d'enlèvement pourra être effectuée auprès de notre fournisseur Dominique Dutscher. Ne pas

hésitez à signaler à Amandine Labat ou à Alodie Snirc lorsque le nombre de cartons arrivent à la limite d'envoi pour le recyclage.

Vous trouverez un stock de carton vide dans la pièce 2331. Le format des cartons des boîtes de Pétri Greiner (de diamètre 94 mm) présente la taille idéale pour les quantités que nous sommes autorisés à renvoyer. Si il n y a plus de carton de ce type disponible, conservez et utilisez des cartons aux dimensions similaires.