

Comportement & consignes de sécurité

Réfléchir avant d'agir

Etre responsable de A à Z

S'investir dans la vie du labo

Travailler avec respect pour autrui

Tout nouveau collaborateur ne pourra commencer son travail pratique qu'après avoir été informé par les techniciens du fonctionnement général **au sein des laboratoires**

Les règles édictées ici sont non seulement indispensables pour la sécurité de chacun mais aussi pour le confort et la bonne marche de ce laboratoire.

Nous demandons à chaque collaborateur de lire attentivement cette charte, d'en respecter toutes les consignes et, à titre d'engagement, d'y apposer sa signature **à la dernière page qui sera photocopiée et remise à Pilar.**

1 - GENERALITES

1.1	Places de travail	p. 2
1.2	Produits	p. 2
1.3	Matériel	p. 2
1.4	Verrerie, vaisselle	p. 3
1.5	Grands nettoyages	p. 3
1.6	Autoclavage	p. 3
1.7	Appareils	p. 4
1.8	Commandes	p. 4

2 - SECURITE

2.1	Manipulation des produits dangereux	p. 4
2.2	Equipements de sécurité	p. 5
2.3	Stockage des produits dangereux	p. 5
2.4	Elimination de matériel dangereux	p. 6
2.5	Centrifugeuses	p. 6

3 - LES MICROORGANISMES

3.1	Manipulations	p. 6
3.2	Contaminations	p. 7

4 - LOCAL **FLUX** PCR

p. 7

5 - LOCAL des GELS

p. 7

6 - COIN CAFE / REPAS

p. 8

7 - ENGAGEMENT / SIGNATURE

p. 9

1 - GENERALITES

1.1 Places de travail

Chaque personne ou groupe de travail se voit attribuer des places de rangement (armoires, meubles à tiroirs). Chacun est prié de les tenir en ordre et de les nettoyer régulièrement. Il en va de même pour les différentes places/paillasses que vous occuperez à court ou à long terme.

Dans tous les locaux, les places de travail (et de rangement) sont **communautaires**. Cela implique que **chaque fois** qu'on a fini d'y travailler on les nettoie comme suit :

► **tables, paillasses, hottes d'aspiration** sont passées à l'alcool 70 % si on y a travaillé avec des bactéries, puis nettoyées à l'eau + éventuellement un produit de nettoyage

► **les flux laminaires** sont systématiquement passés à l'alcool 70 % avant et après le travail, et nettoyés « à fond » une fois par mois selon utilisation.

Remarque : le travail avec des **produits toxiques** implique un nettoyage avec du papier qu'on jette à la poubelle ou qu'on récupère avec les déchets toxiques suivant le degré de toxicité.

► Le travail avec de la **terre, du sable, des billes de verre** sous les flux laminaires implique un nettoyage à fond **immédiat** sous les grilles.

► Le travail avec le **gaz**, sur les paillasses ou sous les flux laminaires, implique une attention particulière :

→ ne jamais laisser un bec Bunsen en veilleuse lorsqu'on quitte sa place

→ l'arrivée de gaz doit être coupée dès le travail terminé.

Une fois un travail terminé, il est impératif de **remettre le matériel à sa place** afin d'éviter aux autres usagers de le chercher partout.

Avant de quitter les lieux, vous êtes priés de passer dans chaque labo où vous avez travaillé afin de vérifier si vous n'avez rien oublié (éteindre un appareil, fermer une arrivée de gaz, fermer une fenêtre, etc.)

1.2 Produits

Les produits sont tous (sauf une ou deux exceptions) répertoriés dans un classeur bleu qui reste en permanence sur la table du local **206**.

Les produits y sont classés par ordre alphabétique des différents groupes :

- Antibiotiques
- Colorants
- Minéraux
- Organiques
- Solvants
- etc.

Dans ce classeur, non seulement vous trouverez le N° des produits, mais aussi leur emplacement ainsi que toutes les indications de toxicité (les références des phrases de risque) donc les consignes à appliquer lors de leur utilisation.

► **Vous devez absolument lire et respecter ces consignes !**

1.3 Matériel

Tout matériel de laboratoire est **cher, voire très cher !**

Nous vous demandons donc d'en avoir du soin et de ne pas le gaspiller !

Tout le matériel que vous préparez (solutions, cultures, boîtes, sachets, etc.) doit être **étiqueté** ainsi :

- nom du produit, sa concentration + indication de toxicité si nécessaire
- votre nom
- la date

Des endroits de rangement (dans les tiroirs, les armoires, la chambre froide, les frigos et les congélateurs à -20°C et -80°C) sont réservés pour chaque personne ou au moins pour chaque projet.

Vous êtes priés d'y mettre toutes vos affaires.

Tout matériel non étiqueté et non rangé sera éliminé.

A la fin d'un travail de master, de thèse ou simplement à la fin d'un stage au LAMUN, chacun est prié de s'occuper de tout le matériel qu'il aura utilisé, d'éliminer les cultures, solutions et milieux sans oublier les frigos, la chambre froide, les congélateurs à -20 ou -80°C.

1.4 Verrerie, vaisselle

Après utilisation, le matériel et la verrerie sont mis à laver au local 204 comme suit :

- **récupérer** d'abord les **restes toxiques** dans les bidons appropriés (hotte du local 208) en se référant aux indications affichées sur la vitre de la hotte.
- rincer le matériel
- retirer les étiquettes ou les inscriptions au marker
- déposer le matériel dans un évier en respectant le tri
- les bouchons, sont placés dans des paniers et triés par grandeur
- les swinnex, soigneusement rincés, sont lavés dans un panier à part
- les seringues, bien rincées, sont placées dans un panier à part
- les pipettes en verre (coton retiré) sont rincées puis placées dans le bac de trempage, pointe en haut.

Un « tournus » de vaisselle permet à chaque collaborateur de se détendre les neurones. Les inscriptions sont faites à l'avance, consultez le tableau affiché sur la porte du local A204. Si la semaine qui vous est attribuée ne vous convient pas (pour des raisons valables !), échangez d'entente avec un autre collègue. Afin de ne pas oublier cette semaine récréative, un panneau vert pomme sera posé sur votre bureau. A la fin de la semaine, déposez-le sur le bureau du prochain candidat.

1.5 Grands nettoyages

Une fois – idéalement 2 fois – par an, nous effectuons les grands nettoyages de tous les locaux, frigos, congélateurs, et chacun y participe. Cela permet de faire un grand tri de matériel, solutions, cultures etc., re-procure matériel, place et propreté.

Plus l'ordre est maintenu au cours de l'année, moins sont pénibles ces grands nettoyages !

1.6 Autoclavage

Tous les collaborateurs (sauf les stagiaires) doivent apprendre à utiliser les 2 autoclaves.

Afin d'éviter les confusions, **tout matériel à autoclaver - y compris les déchets - doit être muni d'un petit morceau de scotch indicateur d'autoclavage.**

On notera précisément le nom des **produits toxiques** à éliminer ensuite de manière spéciale.

Pour des raisons d'économie d'énergie, tout le matériel sera regroupé pour être autoclavé dans le grand autoclave à 11h30.

Si le chariot n'est pas plein, on utilisera le petit autoclave (A 210).

La personne qui ouvre l'autoclave à la fin du programme s'occupe de tout le matériel autoclavé, soit : mettre les géloses en surfusion à 60°C, les solutions sur la table au A205, mettre les tips, eppendorfs etc à sécher dans l'étuve A204, vider les poubelles à déchets, etc.

Chacun gérera ses propres déchets spéciaux.

1.7 Appareils et instruments

Les appareils et les instruments de laboratoire sont délicats et chers voire très chers !

Vous êtes priés de les manipuler avec soin en respectant les consignes.

L'utilisation des appareils implique, au préalable, une connaissance de leur fonctionnement ainsi que de leur entretien.

Vous serez mis au courant par la personne responsable du dit appareil ou par la personne qui vous forme.

Certains appareils présentent des dangers, donc, en aucun cas vous improviserez une manipulation.

Certains appareils, comme les balances, les centrifugeuses, les microscopes doivent être nettoyés après chaque utilisation.

Si vous constatez une défectuosité d'un appareil ou d'un instrument, signalez-le immédiatement à une personne responsable.

1.8 Commandes

Lorsque vous constatez que du matériel ou un produit est bientôt épuisé, il faut le recommander ou aller en racheter au CAFS (Centre d'Achats de la Faculté des Sciences).

Chaque collaborateur doit connaître les procédures de commande.

Un double de toute commande, même passée par téléphone ou par Internet, doit être placé dans les classeurs de commandes adéquats : **vert pour le CAFS, rouge pour tous les autres.**

Les consommables en permanence sur les paillasses (gants, pipettes Pasteur, kleenex etc.) ainsi que certains produits comme GelRed, TBE, alcool etc. sont achetés en communs entre les deux labos (Microbiol et BioSol). Demander en cas de doute. On utilisera la carte « Achats communs ».

2 - SECURITE

2.1 Manipulation des produits dangereux

Avant tout emploi de produits, vous devez avoir lu les consignes de sécurité concernant le produit en question (consultez le classeur bleu ou le catalogue Fluka) et vous devez appliquer ces consignes à la lettre (→ porter gants, lunettes, travailler sous une hotte à aspiration etc.)

Vous pourrez être amenés à manipuler des produits **toxiques, corrosifs, cancérigènes, mutagènes, tératogènes ou autres.**

Les symboles de sécurité sur les étiquettes des produits dangereux doivent être connus :

X_i = substance irritante

X_n = substance nocive

☠ = substance toxique

etc.

Les indications du fabricant concernant :

- les risques = « **phrases R** »
- les conseils de sécurité = « **phrases S** »
- les propriétés des substances = « **phrases F** »

doivent être lues (début du classeur rouge ou fin du catalogue Fluka) **avant de manipuler les produits.**

Réfléchissez avant d'agir ! Appliquez vos notions de bases de chimie avant de mélanger des produits (réactions endo / exothermiques, explosions, dégagement de gaz etc.)

En cas de doute sur un produit chimique (son utilisation et les précautions à prendre) demandez !

Quelques exemples : (liste non exhaustive !)

- le **formamide** est tératogène.
- le **TEMED** (polymérisant pour acrylamide) est très destructeur des tissus, son inhalation peut être fatale, un contact prolongé peut causer des irritations ou des brûlures, c'est un produit très inflammable.
- le **phénol** est très toxique par inhalation, ingestion, contact et peut causer des brûlures graves : il est conseillé de porter 2 paires de gants. En cas de contact, rincer abondamment et surtout, ne pas utiliser d'éthanol qui aggraverait les choses !
- le **chloroforme** est irritant pour la peau, les muqueuses et les voies respiratoires et cancérigène.
- le **SYBR Green** est cancérigène.
- l'**acrylamide** non polymérisé est neurotoxique. Eviter tout contact avec la peau et toute inhalation (si en poudre). Le polyacrylamide peut contenir de l'acrylamide non-polymérisé et doit être manipulé avec les mêmes précautions.

2.2 Equipements de sécurité

Le port de la blouse est obligatoire dans les laboratoires de microbiologie ainsi que dans le local des gels (blouses en papier qui restent dans ce local).

Par contre, la blouse sera retirée avant d'aller au coin café/repas, dans les bureaux, salle de réunion, toilettes etc...

Selon les cas, utilisez **gants, lunettes de protection, masques, hottes d'aspiration** (ventilation maximale !)

En cas de forte transpiration des mains, les gants en latex ne protègent plus après 15 minutes. L'alcool fait pénétrer les produits plus facilement non seulement dans les gants mais aussi dans la peau. Il convient donc de **changer de gants** à chaque fois que l'on n'est plus protégé mais aussi lorsqu'ils ont été en contact avec un produit toxique afin d'éviter de contaminer le labo par exemple en ouvrant un frigo, en utilisant une pipette etc...

SUPPRIMÉ

Le **port d'un MASQUE anti-UV** est **OBLIGATOIRE** pour travailler sur une table UV. Dans ce cadre, le port des lunettes est très insuffisant (**RISQUE DE BRULURE GRAVE**).

Veillez également à avoir toute la surface de la peau couverte (en particulier les poignets, entre les gants et la blouse, le cou...)

En cas de doute, renseignez-vous auprès d'une personne responsable.

2.3 Stockage des produits dangereux

Les produits volatils inflammables sont stockés dans l'**armoire anti-feu** et doivent être remis à leur place après utilisation. **Les produits volatils inflammables à conserver à 4°C seront placés dans le frigo EX au sous-sol, local – A106.**

Le stockage des produits volatils dans les réfrigérateurs de ménage utilisés en laboratoire constitue une source importante d'explosion. Prenez-y garde !

Les **bouteilles de gaz** doivent être attachées au mur par une chaîne.

Rappel : si elle tombe, une bouteille d'oxygène se transforme en fusée et traverse des cloisons !

Après utilisation de gaz en bonbonnes, fermer la vanne et ouvrir le détendeur pour vider les tuyaux et refermer aussitôt !

Pour déplacer les bouteilles de gaz il faut **absolument utiliser le chariot** prévu à cet effet. **Il se trouve derrière la chambre de culture.**

2.4 Elimination de matériel dangereux, toxique

- Aiguilles de seringues : dans les poubelles de table spéciales jaunes. Lorsqu'elles sont pleines, les apporter au CAFS et en reprendre d'autres (c'est gratuit).
- Mercuré : une éponge spéciale absorbant le mercure se trouve sous la hotte du local A208. Attention : AVEC DES GANTS !
- Verre cassé : dans le gros tonneau bleu près de la fenêtre du local A204. Si la verrerie est contaminée avec des microorganismes, la recueillir avec des gants (attention aux coupures !) et l'autoclaver dans un bécher. Y noter « verre cassé ».
- Solutions acides et basiques : directement dans les éviers (bac de rétention au sous-sol).
- Solutions contenant des produits dangereux pour l'environnement : dans les bidons sous la hotte A208 en respectant les consignes affichées.
- Solvants halogénés / non halogénés : idem

2.5 Centrifugeuses

Avant de démarrer une centrifugation, les points suivant doivent absolument être vérifiés :

- le rotor est bien **adapté** à la centrifugeuse
- le rotor est bien **positionné** sur son axe
- le rotor a été chargé en respectant **un parfait équilibre** (balance à plateaux à disposition pour la grande centrifugeuse Beckman dans le local A212)
- le **couvercle du rotor** est verrouillé.

Restez à côté de la centrifugeuse jusqu'à ce que la vitesse programmée soit atteinte.

Un accident causé par une centrifugeuse peut entraîner des dommages physiques humains et matériels très importants.

Par mesure d'hygiène et de sécurité, les centrifugeuses doivent être nettoyées après chaque utilisation (l'eau de condensation entraîne une corrosion des rotors). Les rotors de la grosse centrifugeuse Beckman (A212) doivent être entreposés à l'envers sur les grilles en bois prévues à cet effet dans l'armoire.

3 - LES MICROORGANISMES

3.1 Manipulations

Nous travaillons rarement avec des microorganismes dangereux mais lorsque l'on isole des souches de l'environnement certaines peuvent être soit pathogènes opportunistes, soit pathogènes stricts.

Avant et après chaque expérience avec des microorganismes il faut **se laver les mains** au savon, bien les sécher puis les frotter durant 30 secondes avec du Sterillium (désinfectant).

Les surfaces de travail sont passées à **l'alcool 70 %** avant et après le travail.

Les flux laminaires permettent de créer un espace de travail stérile. Pour cela, le flux doit être allumé environ 15 minutes avant de commencer à travailler (éviter d'éteindre la ventilation entre deux utilisateurs : mettre la petite vitesse).

La stérilité sous les flux est maintenue uniquement si l'air circule correctement : à cet effet, évitez d'encombrer la grille au niveau du plan de travail.

Si vous avez utilisé du matériel de terrain (sol, racines etc.) ou très contaminant comme des moisissures (spores !), etc..., nettoyez le flux à fond (y compris sous le plan de travail) et traitez-le aux UV pendant 15 min. De manière générale, les champignons seront repiqués en mycologie.

Les milieux de culture usagés, (boîtes de Petri, tubes, flacons, etc.) ainsi que tout le matériel contaminé biologiquement sont autoclavés avant d'être mis à la poubelle ou à l'évier.

3.2 Contaminations

Les **acariens**, notamment dans la chambre de culture, sont à l'origine d'importants problèmes de contamination.

Leur présence est visible par les traces qu'ils laissent sur les milieux de culture en boîte de Petri.

Il est assez difficile de s'en débarrasser. Une fois contaminée, la chambre de culture doit être entièrement vidée, nettoyée à fond avec un produit spécial et passée aux UV.

De ce fait :

Le stockage d'échantillons de sols, de composts, de végétaux ou tout autre matériel de terrain dans les labos ou en chambre froide doit être réalisé dans des RECIPIENTS ETANCHES (correctement étiquetés) pour éviter les contaminations (spores de champignons, acariens...).

Il est souhaitable de **parafilmer les boîtes de Petri stockées** en chambre de culture / chambre froide / frigo ce qui permet aussi une meilleure conservation en évitant le dessèchement.

4 - LOCAL **FLUX** PCR (pour le laboratoire de microbiologie)

Le flux laminaire en salle PCR ainsi que le matériel qui y est stocké (en particulier le jeu de pipettes) **sont réservés exclusivement à la préparation des mixs PCR ou RT-PCR**. On ne doit **EN AUCUN CAS** introduire dans cette salle (et encore moins sous le flux) des cellules bactériennes ou des ADNs afin d'éviter les contaminations.

Pour pouvoir travailler sous ce flux, il faut au préalable s'inscrire sur le planning affiché sur la porte du local.

En même temps, il faut réserver une machine PCR (planning à côté des appareils).

Pour tout **nouveau programme**, mettre une **fiche avec le détail des étapes** dans le classeur PCR ainsi que dans le dossier informatique analogue dans Bota_MBiol.

Pour toute **modification temporaire**, mettre un mot sur la machine pour prévenir les autres utilisateurs.

5 - LOCAL des GELS

PORT DE LA BLOUSE OBLIGATOIRE : utiliser les blouses en papier mises à disposition. Ces blouses, ainsi que tout le matériel de ce local, ne doivent en aucun cas en sortir.

PORT DES GANTS BLEUS EN NITRILE OBLIGATOIRE pour toutes les manipulations

Pour l'utilisation de l'ordinateur : GANTS BLANCS EN LATEX NEUFS.

La préparation des échantillons et des gels se fait sur les paillasses délimitées par le scotch blanc.

Les solutions d'agarose doivent être refroidies à **max 55°C** avant d'être coulées afin de ne pas détériorer les supports. **Une étuve à 55°C est à disposition dans le local des gels pour les entreposer.**

Pour préparer ces gels d'agarose, n'utiliser que les flacons (Schott de 250 et 500 ml) réservés à cet effet. Ils seront bien rincés et mis à sécher sur la table du local.

Le tampon TBE des cuves d'électrophorèse doit être changé toutes les 5 migrations. Noter sur les cuves la date à laquelle le tampon est changé ainsi que le nombre d'utilisations.

Le tampon TBE 0.5X doit être re-préparé dès que le bidon est vide. Les boîtes de tips sont remplies après chaque utilisation ! Une fois plein, le pot contenant les tips usagés est vidé dans les grandes poubelles blanches spéciales.

Coloration des gels

La solution de GelRed 3X (4 L) est stockée dans le frigo. Bien que le fabricant de GelRed indique que ce produit n'est pas cancérigène à la concentration d'utilisation, c'est un composé qui se lie à l'ADN. Nous préférons le considérer comme produit **potentiellement dangereux** !

C'est pourquoi l'utilisation du GelRed se fera uniquement dans les **zones délimitées par le scotch rouge**.

Afin d'économiser la solution, une quantité minimale est utilisée (juste recouvrir le gel).

Noter la date à laquelle la solution est changée ainsi que le nombre d'utilisations. Après 10 colorations, la solution est changée.

Gestion des déchets :

Les déchets liquides (bain de coloration de GelRed) sont vidés dans le seau blanc contenant des sachets de charbon actif (sur l'étuve). Une fois ce récipient plein, on le met en agitation minimum une nuit sur la paillasse DGGE. On verse ensuite le liquide à l'évier et on jette les sachets de charbon actifs (contaminés par le GelRed) dans les grandes poubelles blanches spécifiques. On remet 2 sachets neufs de charbon actif dans le seau.

Les déchets solides (gels d'agarose ou d'acrylamide, gants, papiers) sont éliminés dans les grandes poubelles spécifiques. Une poubelle pleine est fermée avec un couvercle sur lequel on inscrit « GELRED », puis stockée sous les paillasses du local. Lorsque toutes les poubelles sont pleines, contacter le CAFS après la fermeture du magasin (9H35 ou 15H35) et fixer un rendez-vous pour leur élimination. Remplir un formulaire pour l'élimination des déchets (tiroir sous la paillasse). Les poubelles seront pesées par le personnel du CAFS pour la facturation. Rapporter du CAFS de nouvelles poubelles vides.

6- COIN CAFE / REPAS

Par respect envers tous les utilisateurs et pour garder cet espace communautaire convivial et accueillant, **chacun lavera, essuiera et rangera la vaisselle commune après utilisation**, et participera au maintien de la propreté des tables, du micro-ondes et de la machine à café.

Merci de bien vouloir **remettre les tasses / verre communs propres à leur place** et ne pas les stocker dans vos bureaux !

Machine à café : respecter les consignes affichées. **Si le tiroir à tourteaux est trop plein, cela endommage l'unité centrale de la machine qui coûte env CHF 100.- !**

Cotisations pour le café/lait/sucre : voir avec Quique.

Frigo : ne pas y oublier la nourriture !

7- ENGAGEMENT / SIGNATURE

Je déclare avoir pris connaissance de cette charte et m'engage à en respecter les consignes.

Neuchâtel, le.....

Nom et prénom (lisibles !)

.....

Signature

.....