Règles de bonnes pratiques dans la pièce de gels “Bet”

Le bromure d’Ethidium (Bet) est un mutagène puissant et sa manipulation nécessite des précautions particulières. Afin de limiter le risque de contamination de l’ensemble des pièces de laboratoire de l’unité par le Bet, sa manipulation est confinée dans la pièce dite “Bet”, où il convient de respecter les règles énumérées ci-dessous.

1- Chaque responsable d’équipe est chargé d’informer tous les nouveaux entrants dans l’unité des bonnes pratiques de laboratoire dans la pièce Bet, et de leur faire signer ce document attestant qu’ils ont pris connaissance des règles à respecter.
2- Port de la blouse et des gants obligatoire. Les gants utilisés dans la pièce Bet sont bleus afin de les différencier de ceux utilisés dans les autres pièces de l’unité. Ils doivent être retirés **AVANT** de sortir de la pièce et être portés **UNIQUEMENT** dans la pièce.
Ils ne doivent être utilisés **qu’une seule fois**.
3- Interdiction **ABSOLUE** de faire rentrer dans la pièce vos tubes de PCRs sur leurs portoirs. Aucun portoir de PCR entré dans la pièce Bet ne doit circuler ensuite dans les autres pièces de l’unité sans avoir au préalable été décontaminé. Afin d’éviter un risque de contamination par le Bet des autres pièces, il vaut mieux préparer votre dépôt dans vos laboratoires respectifs dans une plaque 96 puits, que vous déposez **SUR UN PAPIER ABSORBANT**, et pas directement sur la paillasse, dans la pièce Bet. Si la plaque de dépôt n’a pas touché la paillasse, elle peut être réutilisée. Sinon, elle doit être jetée.
4- Coulage des gels: Une hotte est à disposition pour couler vos gels, mais le coulage des gels sous la hotte n’est pas obligatoire **A CONDITION QUE** certaines règles soient respectées (elles valent aussi lorsqu’on coule le gel sous la hotte):
   - Ne jamais couler un gel avec de l’agarose chaude: cela abime les supports en plexiglas et l’ajout de Bet dans de l’agarose chaude conduit à des émanations de Bet.
   - Après avoir fait fondre l’agarose, ne pas refroidir le gel sous un jet d’eau froide, mais attendre que la température redescende à 60°C avant d’ajouter le Bromure d’Ethidium (deux thermomètres sont prévus à cet effet, vos mains ne sont **PAS** un bon thermomètre)
   - afin d’éviter la précipitation, il est possible soit: de couler des gels à l’avance et de les stocker enveloppés dans du papier saran à +4°C, soit de préparer une grande quantité de gel et de le stocker à l’état liquide dans une étuve à 55°C, dans un flacon clairement identifié (équipe, manipulateur, date, +/- Bet)
5- Les flacons, supports de gels doivent être nettoyés et rangés rapidement.
6- Les tampons de migration usagés doivent être récupérés dans les bidons prévus à cet effet, sous la paillasse de chaque équipe. Les bidons doivent rester fermés en permanence afin d’éviter l’évaporation et le dégagement de vapeurs de Bromure d’Ethidium dans la pièce. Lorsqu’il est plein, le bidon **CLAIREMENT IDENTIFIE** (Bet+ équipe) doit être ensuite transporté vers le lieu de stockage des déchets à éliminer(devant la réserve sur la palette prévue à cet effet)
7- Le stockage des solutions de Bromure d’Ethidium se fait à +4°C, pas sur les paillasses.
8- Evacuation de tous les déchets dans les poubelles réservées à cet effet(carton marron). Seuls les déchets non contaminés type boite de gants et plastiques d’emballage peuvent être évacués dans la poubelle classique située à côté de la porte d’entrée. Lorsque les cartons sont pleins, il faut les fermer, les transporter vers leur lieu de stockage, **CLAIREMENT IDENTIFIES** “Bet”, et les remplacer par un carton vide. Pour le carton contenant les gants, il est souhaitable de le tasser de temps en temps.

Nom et prénom……

Date…… Signature……..