

CONSIGNES CULTURES

Site de Villejean

Pièce bâtiment 15

C1 : en surpression par rapport au couloir

C2 : en dépression, SAS en surpression

C3 : dépression grande pièce et dépression ++ petite pièce (C4)

C1, C2 et grande pièce du C3 : perfusion de foie de rongeurs, culture de lignées cellulaires dont humaines et cellules rongeurs

Petite pièce C4 cultures organotypiques de tissus humains, cultures primaires humaines et infections virales

Les PSM sont de type II (protection du manipulateur et du produit manipulé)

POUR ENTRER

- Laisser la blouse blanche dans le sas d'entrée
- Mettre une blouse culture Bleue et des surchaussures
- Vérifier les voyants de ventilation et d'extraction au-dessus de la porte du C2 (pour le C1 et C2) :

Voyant **vert** allumé: entrée OK

Voyant **vert** et **rouge** allumés: Problème mais entrée possible

Voyant **rouge** allumé (pas d'extraction): Danger prévenir un responsable

Eteindre les appareils qui surchauffent l'atmosphère

- Pour le C3 et C4 vérifier sur le tableau du couloir que les voyants **rouges** ne sont pas allumés. Si voyants **rouges** allumés, prévenir un responsable
- Pour tous les secteurs, vérifier le **manomètre** de la pièce ou vous allez travailler

POUR SORTIR

- Enlever les gants (**mettre des gants propres**)
- Sortir de la pièce de culture
- Enlever la blouse culture et les surchaussures dans le SAS, enlever les gants
- Se laver les mains

INTERDIT DANS LE SECTEUR CULTURE

- ✓ Les fixateurs
- ✓ Les cartons
- ✓ Les polystyrènes
- ✓ Les cahiers de manips
- ✓ Le matériel, flacons.....qui ne sont pas dédiés culture
- ✓ Les téléphones portables entreposés sur les paillasse
- ✓ De laisser les portes ouvertes
- ✓ D'ouvrir 2 portes en même temps (respect des pressions)

Ne pas sortir le matériel dédié à la culture (portoirs, flacons en verre)

TRAITEMENT DES DECHETS

Après chaque manipulation

JAVEL utilisée 2,6% (1 berlingot 9,6% / litre d'eau froide \rightleftharpoons 2,6% solution stable six mois)

Pour les déchets liquides, milieux de culture, utiliser de l'eau de javel **diluée**.

La préparation extemporanée de **1%** de chlore actif est suffisante pour la pré-désinfection de matériel contaminés et des erlens de culture, **0,4%** pour la désinfection des paillasses et verreries et **0,15%** pour les effluents.

DECHETS COURANTS

Les plastiques à usage unique : pipettes et cônes sont entreposés dans les béciers contenant de l'eau javellisée à 1% le temps de la manip puis jetés dans les poubelles jaunes en plastique.

Les boîtes de cultures et matériels plastiques sont rincées à l'eau de javel 2,6% (destruction des cellules). L'eau de javel est ensuite vidée dans un bidon jaune et les boîtes de culture sont jetées dans une poubelle jaune en carton.

Les déchets liquides : les milieux de culture recueillis dans un erlen contenant de l'eau javel 2,6% sont transférés dans un bidon jaune.

En fin de manip, ajouter une dose de poudre gélifiante.

- ☛ Ne pas oublier de javelliser le tuyau d'aspiration des milieux en fin de manip.
- ☛ Nettoyer le PSM au purset 2% et éteindre la pompe
- ☛ Quand le bidon jaune de déchet liquide est plein et bien gélifié (ajouter du gélifiant si nécessaire), le passer au pursept, le sortir du secteur culture et l'évacuer dans la pièce N° 126 du bâtiment 7.

Quand les poubelles jaunes plastiques et cartons sont pleines, les sortir du secteur culture et les évacuer dans la pièce N° 126 du bâtiment 7.

Les déchets papiers : boîte de gants, emballage plastique sont placés dans les poubelles blanches munis d'un sac plastique.

Le matériel réutilisable : doit être autoclavable et autoclavé (boîtes de cônes vides, les flacons en verre, les grilles ...).

DECHETS CHIMIQUES

Les déchets chimiques solides : Les boîtes, tubes, pipettes, cônes souillés chimiquement sont directement éliminés dans une poubelle jaune plastique à fermeture hermétique. Quand la poubelle est pleine, passer l'extérieur au pursept et la déposer, les sortir du secteur culture et les évacuer dans la pièce N° 126 du bâtiment 7.

Les déchets chimiques liquides ayant été en contact avec les cellules sont conservés dans des flacons (tubes, flacons de milieux vides...) contenant un peu de javel puis directement jetés dans le bidon de récupération des milieux de culture. Pas d'aspiration par l'eren.

Les déchets chimiques liquides n'ayant pas été en contact avec les cellules sont conservés dans des flacons (tubes, flacons de milieux vides...). Ils sont annotés : mettre votre nom, le nom du produit, la date... Les flacons seront décontaminés au pursept puis éliminés avec l'aide d'un assistant de prévention. Ils seront stockés dans l'armoire ventilée à déchets chimiques.

LES DECHETS SANGUINS ET HUMAINS (poches de sang, tissus humains...) sont tous directement stockés dans une poubelle jaune plastique à fermeture hermétique. Quand la poubelle est pleine, passer l'extérieur au pursept et la déposer, les sortir du secteur culture et les évacuer dans la pièce N° 126 du bâtiment 7.

Attention la boîte de gélifiant vaut 35.30 euros !

CONSIGNES

C4

POUR ENTRER

- Laisser la blouse bleue à l'entrée de la pièce
- Mettre une blouse verte
- Mettre des gants

POUR SORTIR

- Enlever la blouse verte
- Mettre des gants propres
- Sortir de la pièce, remettre la blouse bleue, sortir du secteur

TRAITEMENT DES DECHETS

Les plastiques à usage unique : pipettes, cônes, matériels plastique sont entreposés dans les béciers contenant de l'eau javellisée puis entreposés dans des poubelles plastiques rigides.

Les déchets liquides sont recueillis dans un bidon jaune.

- Lorsqu'il est vide : mettre 1 berlingot d'eau de javel, puis ajouter les déchets liquides et de la poudre gélifiante à chaque utilisation.
- Lorsqu'il est presque plein : ajouter 2 berlingots d'eau de javel, de la poudre gélifiante et laisser la nuit.
- Quand le bidon est plein et bien gélifié le passer au pursept, l'évacuer dans la pièce N° 126 du bâtiment 7.

PROCEDURE DE NETTOYAGE DU SECTEUR CULTURE

SORTIE DES DECHETS

Une fois par semaine

DECHETS SOLIDES

Si besoin, préparer les sacs à autoclaver les fermer avec du scotch autoclave (pas trop hermétiques sinon ils éclatent dans l'autoclave)
Changer de gants et doubler les sacs avant de les passer à l'autoclave
(Personne habilitée)

- ✓ Déchets solides 125°C 45 min
- ✓ Matériels réutilisables 110°C 20 min

Pas d'autoclave sous tension la nuit

DECHETS LIQUIDES HORS MILIEU DE CULTURE

Dans la bonbonne de 10 litres prévue à cet effet contenant 1 berlingot de javel

- Vider tous les béciers de récupération des plastiques dans la bonbonne (10l) prévue à cet effet (javelliser)
- Renouveler l'eau de tous les incubateurs (plateau pour assurer l'hygrométrie dans l'enceinte, réservoir pour assurer l'hygrométrie au niveau du réglage des paramètres de l'incubateur). Récupération dans la bonbonne prévue à cet effet (javelliser)
- Idem pour le bain marie
- La glace pilée est également éliminée dans cette bonbonne ou dans l'évier de la laverie
- A la fin ajouter 1 berlingot de javel. Le lendemain sortir la bonbonne et la vider dans l'évier de la laverie.

MENAGE

Passer une toile usage unique humide (2% d'eau de javel) sur les sols
Nettoyer les paillasse au pursept 2% et à l'alcool

APPROVISIONNEMENT DU SECTEUR

Avant de ressortir prévoir un ravitaillement du matériel commun si nécessaire

- ✓ Pipettes, supports culture, tubes, cônes stériles, gants.....
- ✓ Gants, Sopalin, Sacs autoclave et sacs poubelle.....
- ✓ Javel, pursept, alcool.....

CONSIGNES CULTURES

C5-C6

Pièces Bâtiment 6

SAS : en surpression par rapport au couloir - 1.5mm H₂O

C5 : en surpression culture est dédiée aux lignées cellulaires dont humaines

C6 : en dépression cultures est dédiée aux eucaryotes et bactéries

Les PSM sont de type II (protection du manipulateur et du produit manipulé)

POUR ENTRER

Les utilisateurs s'assurent de ne pas avoir d'affaires personnelles sur eux (ex : écharpe, vestes, sacs, ...) et de ne pas porter leur blouse de laboratoire avant l'entrée en secteur culture

- Avant d'entrer, vérifier l'indicateur de pression (**manomètre**) dans le couloir
- Mettre une blouse à usage strictement culture (à ranger dans le placard du sas) et identifiée par ses initiales (Les blouses des différents utilisateurs sont suspendues dans le placard prévu à cet effet près de la porte d'entrée du P2).
- Mettre des surchaussures dans le SAS selon la délimitation au sol
- Mettre une paire de gants.
- Pour tous les secteurs, vérifier le **manomètre** de la pièce où vous allez travailler
 - C5, surpression par rapport au SAS 1mm H₂O
 - C6, dépression par rapport au SAS -0.5mmH₂O
- Si défaut de pression, prévenir un responsable

POUR SORTIR

- Enlever les gants (**mettre des gants propres**)
- Sortir de la pièce de culture
- Enlever la blouse culture et les surchaussures dans le SAS, enlever les gants
- Se laver les mains
- Appuyer sur le bouton bleu

INTERDIT DANS LE SECTEUR CULTURE

- ✓ Les fixateurs
- ✓ Les cartons
- ✓ Les polystyrènes
- ✓ Les cahiers de manips
- ✓ Le matériel, flacons.....qui ne sont pas dédiés culture
- ✓ Les téléphones portables entreposés sur les paillasse
- ✓ De laisser les portes ouvertes
- ✓ D'ouvrir 2 portes en même temps (respect des pressions)

TRAITEMENT DES DECHETS

Dans le SAS : jeter dans les DASRI en carton :

- Surchaussures
- Gants
- Blouses réutilisables
- Tapis adhésifs
-

Dans la pièce culture cellulaire C5 (203/2)

Les déchets liquides : les milieux de culture recueillis dans un erlen contenant de l'eau javel 2,6% sont transférés dans un bidon jaune.

En fin de manip, ajouter une dose de poudre gélifiante.

- ☛ Ne pas oublier de javelliser le tuyau d'aspiration des milieux en fin de manip.
- ☛ Nettoyer le PSM au pursept 2% et éteindre la pompe
- ☛ Quand le bidon jaune de déchet liquide est plein et bien gélifié (ajouter du gélifiant si nécessaire), le passer au pursept, le sortir du secteur culture et l'entreposer dans le couloir.

Les déchets solides : tous les plastiques à usage unique ayant été en contact avec des milieux de cultures solides ou liquides, contaminés par des cellules (pipettes, flasques de culture cellulaire, bouteilles plastiques de milieu servant de poubelle...) sont jetés dans les DASRI en plastique dur.

Les papiers non contaminés dans poubelle ménagère :

Quand les poubelles jaunes plastiques et cartons sont pleines, les sortir du secteur culture et les entreposer dans le couloir.

Dans la pièce C6 (203/1)

Déchets solides : Tous les plastiques à usage unique ayant été en contact avec des milieux de cultures solides ou liquides, contaminés par des bactéries ou des cellules (pipettes, ensemenceurs, boîtes de petri, bouteilles plastiques de milieu servant de poubelle...) sont jetés dans les DASRI en plastique dur

Toute la verrerie contaminée (tubes et flacons) sera placée dans bassine verte dite « contaminée » sur paillasse réservée côté bactériologie

Papiers non contaminés : dans poubelle ménagère

Pour sortir du secteur : appuyer sur le bouton bleu

Ménage

Les utilisateurs sont tenus de garder le laboratoire propre et en ordre de manière régulière :

	Produit à utiliser	Mode de nettoyage	Fréquence de nettoyage
Paillasses	Surfanios ou pursep 2%	En spray	Avant et après chaque manipulation
PSM	Surfanios ou pursep 2%	En spray indirectement sur la surface	Avant et après chaque manipulation
Sols	Surfanios ou pursep 2%	Serpillières à usage unique	Une fois par semaine

Dosage du Surfanios : 1 sachet de Surfanios (20 mL) dans 5L d'eau
(le bidon prévu à cet effet se situe dans le placard du sas)

Gestion des stocks

Il est impératif de réapprovisionner les stocks en consommables et en milieu après usage