 <p>Marseille Medical Genetics</p>	<p align="center">Procédure Salle de Culture L2 Humain (4^{ème} étage Aile verte, Salle n° 4311)</p>	<p>PR_MMG_SCL2H Création : 15/01/2020 Diffusion : 12/02/2020 Version : 2</p>
---	--	--

Page 1 sur 3

Notes Générales

Le L2 humain est une pièce respectant des normes H&S strictes. Les manquements répétitifs à ces règles résulteront en une suspension du droit d'accès.

- La salle doit être maintenue propre et organisée ; le désordre mène aux contaminations de vos cultures.
- L'entrée dans la zone Culture cellulaire, se fait en passant sur un premier tapis adhésif.
- L'utilisateur s'équipe ensuite d'une charlotte (Obligatoire), sur-chaussures, retire pull et/ou gilet (si besoin), le pose sur le porte-manteau et se lave les mains à l'évier.
- L'utilisateur passe ensuite un sas de sécurité, en passant sur le deuxième tapis adhésif.
- Dans le sas, l'utilisateur s'équipe d'une blouse.
- L'utilisateur devient responsable de l'intégrité, de la propreté ainsi que de l'élimination du matériel qu'il utilise.
- L'utilisateur annote TOUS ses réactifs (initiales + équipe). Les réactifs non-identifiés sans date d'ouverture ou de préparation seront jetés.
- L'usage de téléphones portables est interdit dans le L2 en tant que source potentielle de contamination.
- Les PSMs sont allumés le matin. L'utilisateur l'éteint systématiquement après 15h.

Organisation et Matériels

La salle est équipée de 2 PSMs ; 4 incubateurs communs + 1 incubateur (FM) ; 1 centrifugeuse ; 2 microscopes dont 1 équipé d'une caméra et d'un filtre fluo, 1 bain-marie et 1 compteur de cellules Countess II (appartenant à PGL). La salle est également pourvue d'une pompe d'aspiration, de 2 jeux complets de pipettes, de 2 pipettes-boy et de portoirs dédiés.

- La procédure d'utilisation du microscope est localisée dans le tiroir adjacent
- La procédure du Countess II est consultable sur le site de l'unité.


Les équipements et consommables sont rangés dans des tiroirs identifiés sous-paillasse, un espace délimité pour chaque équipe est également identifié sur ces meubles.

- Les pipettes de 2, 5, 10, 25mL et pointes à filtres sont communes.
- Les Falcons de 15 et 50mL, ainsi que les Eppendorfs (1.5 et 2mL) et tubes de congélations sont communs.
- Les boîtes de cultures, flasques et lamelles sont nominatives.

L'utilisateur s'assure de ne pas laisser les tiroirs de consommables communs SANS les « recharger ».

Le 4°C est organisé par équipe, identifiée par des étiquettes sur les étagères. Aucun réactif stocké dans le 4°C n'est en partage.

<p align="center">Rédacteur</p> <p>Nom : JD. Robin Date : 15/01/2020 Visa</p>	<p align="center">Valideur</p> <p>Nom : N. Da Silva Date : 12/02/2020 Visa</p>	<p align="center">Approbateur</p> <p>Nom : P. Roll Date : 15/01/2020 Visa</p>
---	--	---

 <p>Marseille Medical Genetics</p>	<p align="center">Procédure Salle de Culture L2 Humain (4^{ème} étage Aile verte, Salle n° 4311)</p>	<p>PR_MMG_SCL2H Création : 15/01/2020 Diffusion : 12/02/2020 Version : 2</p>
---	--	--

Page 2 sur 3

Travail sous le PSM

La réservation d'un créneau horaire de travail est OBLIGATOIRE pour l'utilisation du PSM1 ou PSM2. La mise en route du PSM se fait à l'aide du tableau de commande situé au-dessus de la vitre : Le mode d'emploi, simplifié nécessite de suivre dans l'ordre les gommettes rouges (mise en marche) ou jaunes (mise en arrêt). Avant chaque utilisation, l'utilisateur s'assure du flux du PSM et nettoie l'espace de travail : dessus et dessous des grilles (Amphospray).

L'espace de travail du PSM doit être dégagé et ne contenir que le nécessaire utile au manipulateur. Il est important que le Flux reste constant afin de préserver la stérilité de l'espace. Tout matériel installé sous le PSM doit être désinfecté avant utilisation.

Les déchets liquides générés sont disposés dans des récipients en plastique prévu, refermés puis jetés dans la poubelle jaune. Les déchets solides (pipettes souillées, etc,..) sont d'abord jetés dans les sacs blancs autocollants (rangés dans le tiroir), puis dans la poubelle jaune.

Pompe d'aspiration


Une pompe d'aspiration est disponible sous le PSM 1. Elle nécessite des pointes non-filtrées de 1mL, autoclavées (nominatif). Pour l'utiliser : mettre en route la pompe, nettoyer le tuyau d'aspiration, aspirer un peu d'Amphospray pour décontaminer l'intérieur du tube. Sous PSM, ajouter une pointe de 1mL non-filtrée, aspirer votre milieu. Avant d'éteindre la pompe, s'assurer que le tube ne contient pas de milieu qui stagne, aspirer encore un peu d'Amphospray. Éteignez la pompe. La bouteille d'évacuation des milieux est vidée toutes les semaines, en ajoutant de l'eau de javel, et en la réservant dans des jerricanes (stockés sous l'évier). Ce liquide est ensuite traité comme un déchet chimique liquide.

Conduite à tenir en présence d'une contamination (produits de culture, milieux)

Toute contamination microbiologique (bactéries, champignons) constatée doit être immédiatement signalée aux référents du L2 concerné ainsi qu'aux responsables de la PTF, pour une prise de mesure rapide, adaptée et globale, afin d'éviter une propagation et essayer d'en déterminer la source. Faire si possible une photo pour garder une trace du type de contaminant. En cas de contamination importante et « non-maîtrisée », un aliquot de milieu pourra être conservé pour une identification par un laboratoire de microbiologie. Sauf exception (à discuter obligatoirement avec les référents), les échantillons contaminés seront éliminés après décontamination, ainsi que les milieux de culture ou les autres produits potentiellement contaminés.

Les autres utilisateurs seront rapidement consultés pour s'assurer de l'absence d'autres contaminations.

<p align="center">Rédacteur</p> <p>Nom : JD. Robin Date : 15/01/2020 Visa</p>	<p align="center">Validateur</p> <p>Nom : N. Da Silva Date : 12/02/2020 Visa</p>	<p align="center">Approbateur</p> <p>Nom : P. Roll Date : 15/01/2020 Visa</p>
---	--	---

 <p>Marseille Medical Genetics</p>	<p align="center">Procédure Salle de Culture L2 Humain (4^{ème} étage Aile verte, Salle n° 4311)</p>	<p>PR_MMG_SCL2H Création : 15/01/2020 Diffusion :12/02/2020 Version : 2</p>
---	--	---

Page 3 sur 3

Mycoplasmes

Des tests de cultures sont nécessaires afin de prévenir des cross-contaminations, mais également d'éviter de persévérer avec des cultures contaminées, menant à des résultats biaisés, des séquençages à haut-débit ou des IFs inutilisables.

Tous les mois, à date fixe (dernier Mercredi du mois), les cultures seront testées pour les mycoplasmes (PCR). Un aliquot annoté de 1mL de vos cultures sera à déposer dans la boîte stockée à 4°C avant 15h. Les résultats seront transmis le lendemain par mail aux personnes concernées.

Nettoyage de la Salle

Toutes les semaines un nettoyage complet de la salle doit être effectué. La désignation des personnes pour le nettoyage se fait par roulement entre équipes utilisatrices. Un calendrier prévisionnel est associé au planning de réservation des PSMs.

Les consignes de nettoyage sont fournies dans la fiche Procédure Nettoyage L2 Humain.

<p align="center">Rédacteur</p> <p>Nom : JD. Robin Date : 15/01/2020 Visa</p>	<p align="center">Validateur</p> <p>Nom : N. Da Silva Date : 12/02/2020 Visa</p>	<p align="center">Approbateur</p> <p>Nom : P. Roll Date : 15/01/2020 Visa</p>
---	--	---