

CORNING

Life
Sciences

Les bonnes pratiques
de culture cellulaire

Les bonnes pratiques en culture cellulaire



- EPI (Equipement de protection individuel)
 - Porter des gants pour manipuler des cellules
 - Changer les gants régulièrement et immédiatement en cas de projection de matériel biologique
 - Porter une blouse propre et réservée au laboratoire de culture cellulaire
 - Porter des lunettes de sécurité

Technique aseptique

- Désinfecter la zone de travail avant et après toute manipulation
- Travailler sous un poste de sécurité microbiologique bien entretenu et contrôlé régulièrement
- Ne pas porter les mains au visage (pour se moucher, replacer une mèche de cheveux...)
- Eviter de générer des aérosols



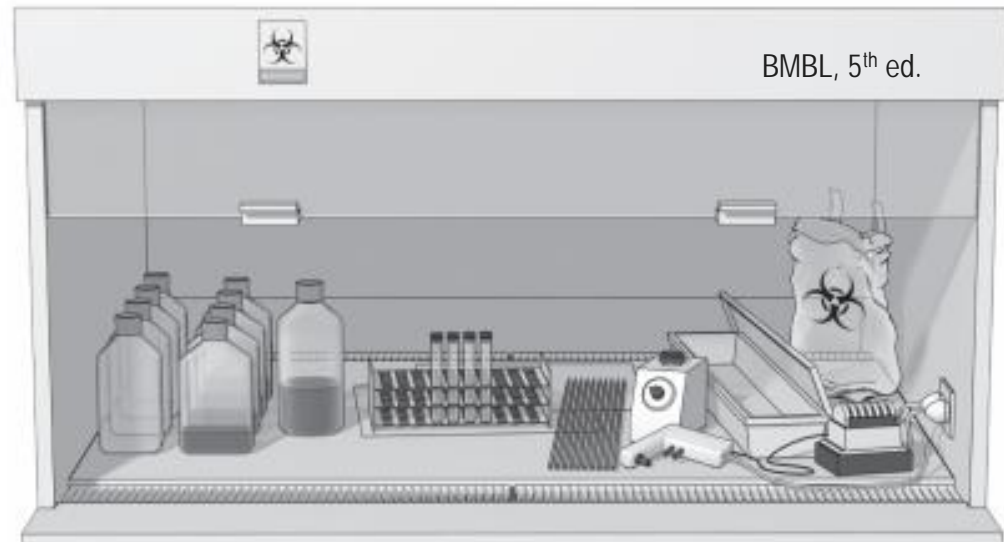
Travailler sous PSM II

- Ne pas bloquer les grilles des veines de garde à l'avant et à l'arrière du plan de travail
- Décontaminer tout le matériel avant de l'introduire sous le PSM II
- Ne pas stocker de déchet sous le PSM
- Ne pas stocker de matériel inutile sous le PSM
- Attendre 15-20 minutes avant de commencer à travailler sous le PSM



Travailler sous PSM II

- Ne pas faire de mouvements brusques, ne pas passer les mains au-dessus des récipients
- En cas de projection ou de renversement, nettoyer et décontaminer immédiatement le plan de travail
- Ne pas laisser les flacons de culture ou de milieu ouverts
- Protéger les plaques de culture avec leur couvercle



Travailler sous PSM II

- Travailler au centre du plan de travail, en retrait de la veine de garde
- Placer les équipements électriques à l'arrière du PSM
- Interrompre les opérations de pipettage pendant le fonctionnement de ces équipements et garder les flacons fermés,
- Attention à la décontamination par UV!
 - Les lampes UV ont une durée de vie limitée (~3000 heures): elles ne génèrent plus qu'une lumière bleue et pas de rayonnement UV

Incubateurs

- Limiter la fréquence et la durée d'ouverture
- Vérifier régulièrement le contenu et éliminer les flacons de culture "orphelins"
- Porter des gants lors de la manipulation des flacons dans les incubateurs
- Garder leur environnement propre (plans de travail voisin où sont déposés momentanément les flacons)
- Bac d'eau
 - Utiliser un algicide type Aquaguard
 - Essuyer régulièrement la condensation qui peut se former sur la porte intérieure, le fond de l'incubateur ou sur les parois puis désinfecter à l'éthanol 70%



Incubateur “Do’s and Don’ts”

- Don’t: à ne pas faire
 - Ne pas utiliser le même incubateur pour des cultures de cellules et des bactéries ou des mycoplasmes (réaliser ces différents types de culture dans des laboratoires séparés)
 - Ne pas utiliser d’emballages papier ou carton dans les incubateurs
 - Ne pas utiliser de désinfectants ayant des effets cytotoxiques

- Do: à faire
 - Utiliser des flacons de culture à bouchons entilés
 - Désinfecter en cas de projection de liquide
 - Garder l’environnement propre: microscope, chariot, plans de travail,,,



L'entretien du laboratoire

- Nettoyer et désinfecter les surfaces de travail avant et après toutes manipulations
- Penser à la platine du microscope, au chariot utilisé pour transporter le matériel
- Nettoyer et désinfecter les sols régulièrement en utilisant des lingettes à usage uniques



Entretien du PSM

- Le PSM doit être nettoyé au moins une fois par mois, plus fréquemment en fonction du nombre d'utilisateur et de l'activité du laboratoire
 - Retirer les grilles du plan de travail
 - Nettoyer la base du PSM, désinfecter et remplacer les grilles propres
 - Il peut être nécessaire de faire tremper la surface si elle est très sale



Entretien des incubateurs

- Nettoyer et désinfecter régulièrement les incubateurs
- Retirer les étagères
 - Les nettoyer, l'autoclavage est possible
 - Nettoyer et désinfecter les parois internes
 - Nettoyer et désinfecter le bac d'eau, utiliser de l'eau stérile
 - Eventuellement changer les filtres HEPA et les tubes d'alimentation en CO₂



Entretien des bains-marie

- Nettoyer régulièrement le BM, renouveler l'eau fréquemment
- Utiliser un couvercle pour filtrer la lumière et limiter le développement d'algues
- Utiliser des anti-fongiques
- NE PAS UTILISER l'azide de sodium:
 - Risque explosif dans les canalisations quand éliminé dans l'évier
 - Toxique pour l'environnement



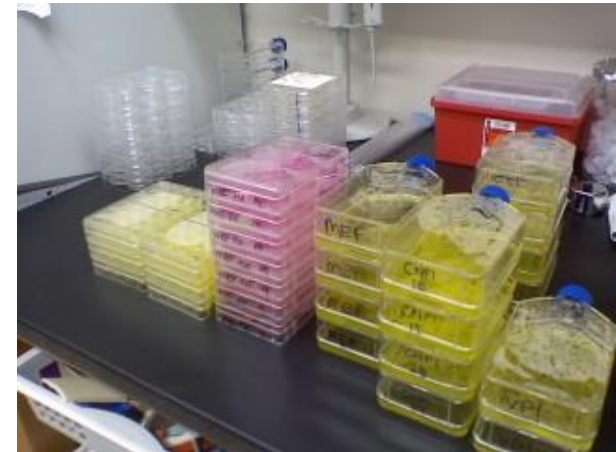
Entretien des pipetteurs

- Penser à changer régulièrement les filtres des pipetteurs qui sont une source de contamination cachée!



Élimination de matériel contaminé

- Vous suspectez une contamination?
N'ouvrez pas les flacons!
- Fermez hermétiquement tous les bouchons.
- Evacuez les flacons contaminés dans un laboratoire extérieur et ajouter de l'eau de Javel.
- Après une nuit d'action, éliminer les déchets selon la procédure du laboratoire,

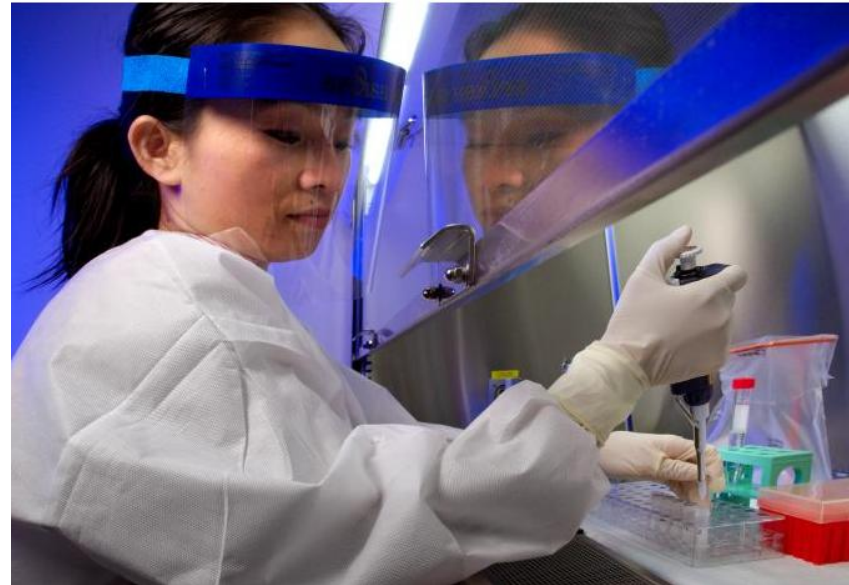


Le quizz des bonnes pratiques

Trouvez ce qui ne va pas sur chaque photo...



- Moisissures dans le récipient de collecte des déchets liquides
- Pas de filtre sur la ligne
- Pas de bac de rétention: le récipient devrait être placé dans un bac et pas sur le sol



- Cette personne travaille trop prêt de la veine de garde avant:
- Elle n'est pas protégée d'un risque infectieux venant de son matériel
 - Son matériel n'est pas protégé d'une contamination microbienne