

Comment manipuler sous la hotte à flux laminaire ?

Mots d'ordre : asepsie, calme, concentration et organisation !

Qu'est-ce qu'une hotte à flux laminaire ?

→ C'est un plan de travail conçu pour éviter la contamination et assurer l'asepsie. De l'air, passant par un filtre HEPA, est diffusé en flux laminaire vers l'utilisateur. La hotte est souvent équipée d'une lampe UV pour stériliser le plan de travail.

Avant de travailler sous la hotte, le manipulateur doit :

- Porter un sarrau propre
- Mettre ses lunettes de protection
- Porter des gants en latex stériles et à sa taille (surtout pas trop grands !)
- Désinfecter les gants avec de l'alcool isopropylique 70%

Préparation de la hotte :

- Porter tous les vêtements protecteurs
- Désinfecter les gants avec de l'alcool isopropylique 70%
- Ouvrir la hotte et placer la vitre au niveau du repère, allumer la lumière
- Attendre que le flux laminaire soit établi (voyants passant du rouge au vert)
- Désinfecter la hotte avec de l'alcool isopropylique 70%

Déballage du matériel, introduction sous la hotte et disposition sous la hotte :

Tout ce qui est sous la hotte est stérile !

- Désinfecter tous les objets pouvant être désinfectés à l'alcool isopropylique 70% avant de les introduire sous la hotte (verre, plastique, pipettes...)

Attention : pipettes stériles et contenants étiquetés → ne pas faire couler l'encre !

- Ouvrir les contenants stériles sous la hotte uniquement ! (plaques 6 puits emballées individuellement, pipettes stériles, flacons...)
- Pipettes stériles : ouvrir l'emballage par le haut sans toucher la pipette, mettre les graduations face à vous lorsque la pipette est encore dans l'emballage sans toucher la pipette
- Disposer correctement le matériel : ne pas toucher les parois, à 10 cm de l'ouverture
- Aucun article avec embout non protégé (pipette, aiguille, filtre, seringue...) ne doit être posé sans protection sur la surface de travail
- Ne pas jeter ou déchirer les emballages après avoir sorti le matériel, ils serviront à jeter le matériel
- Introduire tout le matériel nécessaire avant de commencer la manipulation (ne pas surcharger la hotte cependant)

Gestion des déchets :

- Les pipettes stériles doivent être remises dans leur emballage et jetées dans la poubelle de déchets biologiques à côté de la hotte
- Les tips sont jetés dans la poubelle prévue à cet effet sous la hotte
- Les flacons, seringues, eppendorfs et autres contenant en plastique sont jetés vides dans leur emballage (le cas échéant) dans la poubelle de déchets biologiques en dehors de la hotte
- Les aiguilles sont replacées dans leur étui protecteur puis jetées dans la poubelle appropriée pour objets coupants
- Les déchets liquides (milieu de culture, suspension cellulaire ou autre) sont transvasés de manière stérile dans le contenant (WASTE) sous la hotte prévu à cet effet
- Lorsque le contenant de déchets liquides (WASTE) est plein au $\frac{3}{4}$, le sortir fermé de la hotte, remplir de javel, laisser sous la hotte chimique au moins 3 jours, puis vider à l'évier → placer un nouveau contenant nettoyé à l'alcool isopropylique 70% sous la hotte

Fin du travail :

- Uniquement sortir de la hotte des contenants correctement fermés assurant la stérilité
- Gérer tous ses déchets
- Nettoyer le plan de travail à l'alcool isopropylique 70%

Consignes spécifiques:

- Les gants ou les manches ne doivent jamais toucher la surface de travail !
- Renettoyer les gants à l'alcool isopropylique 70% si les mains ont été sorties de la hotte ou en contact avec un objet non stérile
- Changer les gants si nécessaire
- Ne pas obstruer le flux laminaire (objets sur les grilles, mettre le minimum de matériel requis sous la hotte...)
- Ne toucher aucun site critique (aiguille, embouts, filtres, ouvertures et cols des flacons, intérieur des capuchons...) avec les doigts !
- Eviter de répéter des entrées et sorties des mains des la hotte
- Manipuler avec des gestes lents et qui évitent la contamination (ne pas passer les mains par dessus-le matériel tel que des flacons ouverts, ne pas toucher les embouts)
- Ne pas laisser les cellules trop longtemps hors de l'incubateur
- Limiter le temps d'exposition des sites critiques (flacons ouverts...)
- Bien organiser son plan de travail : pousser les bouchons et le matériel non utilisé au fond de la hotte ou sur les côtés
- Si une goutte tombe sur le plan de travail, la nettoyer dès que possible l'alcool isopropylique 70%
- Pas de panique ! Si un bouchon tombe sur la mauvaise face, si la pipette touche le plan de travail...prendre du nouveau matériel et recommencer (dans les cas où cela est possible). En cas de doute, ne pas hésiter à redésinfecter ou à changer de matériel
- Toujours incliner les flacons à 45° pour les prélèvements et le remplissage