

## Guide vers la Sécurité Biologique et les Postes de Sécurité Microbiologique

---

## Avant-Propos

Ce fascicule a été développé pour fournir les connaissances de base en termes de sécurité biologique ainsi que sur les postes de sécurité microbiologique. Les informations présentées sont authentiques et génériques, et proviennent de microbiologistes expérimentés, d'ingénieurs et d'utilisateur d'environnement contrôlé.

# I. NIVEAUX DE DANGÉROSITÉ ET SÉCURITÉ BIOLOGIQUE

L'expression « danger biologique » est définie comme : « organisme, ou substance dérivée d'un organisme, présentant une menace réelle ou potentielle pour la santé humaine, animale et/ou végétale, directement par infection ou indirectement par perturbation de l'environnement. »

Les niveaux de sécurité biologique, allant du niveau 1 à 4, ont été établis par le Centre pour le Contrôle des Maladies (CDC) et l'Institut Nationale pour la Santé (NIH). Ils rassemblent les techniques et pratiques faites en laboratoire, équipements de sécurité utilisés et locaux adaptés. Tous ces niveaux sont établis en fonction de la dangerosité qu'entraînent les agents utilisés et les activités de laboratoire conduites.

2

## Niveau 1 de Sécurité Biologique

Pratiques, équipements de sécurité et locaux appropriés pour travailler avec des souches de microorganismes viables définies comme ne causant généralement pas de maladie chez l'adulte en bonne santé. Le laboratoire n'est pas nécessairement séparé du flux de passage principal ou du reste du bâtiment. Le travail est généralement effectué sur un plan de travail ouvert avec des pratiques microbiologiques standards. Des équipements de confinement spéciaux ou une conception particulière des locaux ne sont généralement pas requis, ni utilisés. Le personnel de laboratoire a reçu une formation spéciale pour les procédures employées et est supervisé par un scientifique ayant des connaissances générales en microbiologie ou dans une science relative. Un poste de sécurité microbiologique n'est généralement pas requis lorsque ces agents sont impliqués.

## Niveau 2 de Sécurité Biologique

Pratiques, équipements de sécurité et locaux appropriés pour travailler avec un spectre d'agent indigène à risque modéré présent dans la communauté et associé avec une maladie humaine ayant des sévérités variées. Il diffère du niveau 1 en ceci :

- a) le personnel de laboratoire reçoit une formation spécifique dans la manipulation d'agent pathogène et est dirigé par des scientifiques compétents;
- b) l'accès au laboratoire est limité lorsque la manipulation est en cours;
- c) des précautions extrêmes doivent être prises lors de la manipulation d'éléments tranchants contaminés
- d) certaines procédures avec lesquelles des aérosols infectieux ou éclaboussures pourraient être créés sont conduites dans des postes de sécurité microbiologique ou dans tout autre équipement de confinement physique. Un poste de sécurité microbiologique de classe I ou II est fortement recommandé lorsque ce type d'agent est manipulé.

### Niveau 3 de Sécurité Biologique

Pratiques, équipements de sécurité et locaux appropriés pour travailler avec des agents indigènes ou exotiques ayant un potentiel de transmission par voie aérienne pouvant causer une infection sérieuse voire létale. Une attention particulière est dirigée vers les barrières primaires et secondaires afin de protéger le personnel présent dans la zone contagieuse et l'environnement de toute exposition aux aérosols infectieux potentiels. Un poste de sécurité de classe I ou II est requis pour la manipulation de ce type d'agent.

### Niveau 4 de Sécurité Biologique

Pratiques, équipements de sécurité et locaux appropriés pour travailler avec des agents exotiques et dangereux qui entraînent un haut risque de maladie mortelle pouvant être transmises par voie aérienne, et pour lesquelles il n'existe pas de vaccin ou de traitement. Les membres de l'équipe du laboratoire ont reçu une formation spécifique et intensive dans la manipulation d'agent infectieux extrêmement dangereux et comprennent les fonctions des barrières primaires et secondaires des pratiques standards et spéciales, des équipements de confinement, et les caractéristiques de la conception du laboratoire. Ils sont supervisés par des scientifiques compétant ayant été formés pour la manipulation de ce type d'agent et ayant de l'expérience dans le domaine. L'accès au laboratoire est strictement contrôlé par le directeur de laboratoire. Le laboratoire est séparé du bâtiment principal ou se situe dans une zone contrôlée à l'intérieur du bâtiment, étant ainsi complètement isolé de toutes les autres parties du bâtiment. Un manuel de consignes d'exploitation est préparé ou adopté. Un poste de sécurité microbiologique de classe III est requis pour travailler avec ce type d'agent.

3

Source: **Biosafety in Microbiology and Biomedical Laboratories, U.S.** Department of Health and Human Services, HHS publication (CDC) 99-8395, 4th Edition. April 1999. p 11-14.

**Tableau 1. Résumé des Niveaux de Sécurité Biologique et Agents Infectieux**

Niveau de Sécurité Biologique	Agents Infectieux	Exemples	Pratiques et Techniques	Equipements de Sécurité (Barrières Primaires)	Locaux (Barrières Secondaires)
1	Non connu pour causer des maladies chez l'homme adulte en bonne santé	Bacillus Subtilis, Naegleria gruberi, Infections canines, Virus hépatique, E. coli.	<i>Pratique Microbiologique Standard</i>	Non requis.	Plan de travail ouvert, évier requis.
2	Associé à une maladie humaine. Dangers primaires : blessures percutanées, ingestions, expositions d'une membrane muqueuse.	Measles virus, salmonellae, Toxoplasma spp. Virus Hépatiques A, B et C, VIH.	<b>Niveau 1 plus:</b> • Accès limité • Signes d'avertissement de danger biologique • Précautions avec des « objets trans-chants » • Manuel de sécurité biologique définissant toutes les pratiques nécessaires de décontamination des déchets et les pratiques de surveillance médicale • Protection respiratoire requise	<b>Barrières Primaires:</b> PSM de Classe I ou II ou autre appareil de confinement physique adéquat pour des manipulations d'agent pouvant entraîner des éclaboussures ou des aérosols de matières infectieuses. <b>Équipement de Protection du Personnel:</b> Blouse de laboratoire, gants, protection faciale, si besoin.	<b>Niveau 1 plus:</b> • Autoclave disponible
3	Agents indigènes ou exotiques avec transmission potentielle par aérosol, la maladie peut avoir des conséquences sérieuses voire létales.	M. Tuberculosis, St. louis encephalitis virus, Coxiella Burnetti, Bacillus anthracis (niveau de production).	<b>Niveau 2 plus:</b> • Accès contrôlé • Décontamination des déchets • Décontamination des vêtements de laboratoire • Base d'échantillon de sérum du personnel de laboratoire	<b>Barrières Primaires:</b> PSM de Classe I ou II ou autre appareils de confinement physique adéquats pour des manipulations d'agent. Équipement de <b>Protection du Personnel:</b> Blouse de laboratoire, gants, protection faciale, nécessaires.	<b>Niveau 2 plus:</b> • Séparation physique du couloir d'accès • Auto fermeture, accès via une double porte • Air évacué non recirculé • Flux d'air négatif dans le laboratoire
4	Agents dangereux / exotiques qui entraînent un haut risque de maladie mortelle. Peuvent se transmettre via aérosol, risque de transmission inconnu.	Nombreux virus causant des maladies hémorragiques (Ebola, Marburg, fièvre de Lassa, hantavirus, etc.), H5N1 (grippe aviaire) et Yersinia pestis.	<b>Niveau 3 plus:</b> • Changement de vêtement avant d'entrer dans le laboratoire • Douche à la sortie • Tout matériel sortant du laboratoire doit être décontaminé	<b>Barrières Primaires:</b> Toutes procédures conduites dans un PSM de Classe III ou I ou II doit être effectuées avec une combinaison entière, alimentée en air, pressurisée positivement	<b>Niveau 3 plus:</b> • Séparé du bâtiment ou dans une zone isolée • Aspiration / A provisionnement en air dédiée et systèmes de décontamination • Exigences additionnelles faisant référence au Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories

Source: *Biosafety in Microbiology and Biomedical Laboratories, U.S. Department of Health and Human Services, HHS publication (CDC) 99-8395, 4th Edition.*  
 April 1999, p 52-53.

## II. POSTES DE SÉCURITÉ MICROBIOLOGIQUE

Les termes « postes de sécurité microbiologique » et « postes microbiologiques » ont souvent été utilisés pour décrire de nombreux appareils équipés de filtre HEPA et conçus pour offrir une protection à la fois du personnel et du produit contre des matériaux biologiquement dangereux. Les termes devraient uniquement être utilisés pour dénommer les appareils respectant les exigences techniques de Classe I, II ou III, ceci basé sur leur fabrication, vitesse, schéma de flux d'air, et leur système d'extraction.

### Principales Normes Internationales pour Postes de Sécurité Microbiologique :

- Norme Américaine NSF/ANSI 49
- Norme Européenne EN 12469
- Norme Australienne 2252
- Norme Japonaise JIS K 3800
- Norme Chinoise SFDA 440569

Classe	Vit. Entrée (m/s)	Air Recirc. (%)	Air Evacué (%)	Plenum Contaminé Entouré par	Alternatives d'Evacuation	Niveau de Sécurité Microbiologique
I	US:0.38 EN:0.70	0	100%	Air ambiant (Laboratoire)	Intérieur / Conduit Fixe	1, 2 & 3
II Type A1	US:0.38 EN:NA*	70	30%	Air ambiant (Laboratoire)	Intérieur / Conduit Fixe	1, 2 & 3
II Type A2	US:0.50 EN:0.40	70	30%	Pression Négative	Intérieur / Conduit Fixe	1, 2 & 3
II Type B1	US:0.50 EN:NA*	30	70%	Pression Négative	Conduit Fixe Uniquement	1, 2 & 3
II Type B2	US:0.50 EN:NA*	0	100%	Pression Négative	Conduit Fixe Uniquement	1, 2 & 3
III	Fermé P>0,5"WG	0	100%	Pression Négative	Intérieur / Conduit Fixe	1, 2, 3 & 4

**Tableau 2.** Classes des Postes de Sécurité Microbiologique

Source: **Laboratory Biosafety Manual**. Second Edition (revised). Interim guidelines. World Health Organization. p32.

\* La conception de ce poste n'est pas reconnue par la norme EN 12469

\*\* Différence entre la pression ambiante et celle présente dans la chambre.

\*\*\*Nouvelle norme NSF/ANSI 49:2010, avec un poste de Classe II Type A1, le plenum contaminé doit maintenant être entouré par une pression négative.

## Poste de Sécurité Microbiologique de Classe I

Le poste de Classe I a la conception la plus simple et rudimentaire de tous les postes de sécurité microbiologique disponible aujourd'hui. Un flux d'air dirigé vers l'intérieur du poste contient les aérosols générés pendant les manipulations microbiologiques. Il passe ensuite à travers un système de filtration qui capture les particules et contaminants présent dans l'air. Enfin, l'air pur et décontaminé est évacué du poste. Le système de filtration est généralement formé d'un préfiltre et d'un filtre HEPA (High Efficiency Particulate Air).

Bien que le poste de Classe I protège l'opérateur et l'environnement de toutes expositions aux éléments biologiquement dangereux, il n'empêche pas les échantillons d'entrer en contact avec des particules présentes dans l'air ou des contaminants qui pourraient se trouver dans l'air ambiant. Naturellement, il est possible qu'une contamination croisée puisse affecter la manipulation. Par conséquent l'éventail d'action des postes de Classe I est limité et ceux-ci sont largement considérés comme obsolètes.

Tous les postes de de sécurité de Classe I peuvent être utilisés avec des agents microbiologiques de sécurité biologique de niveau 1, 2 et 3.

6

## Poste de Sécurité Microbiologique de Classe II

Tout comme les postes de sécurité microbiologique de Classe I, les postes de Classe II possèdent un flux d'air dirigé vers l'intérieur du poste. Ceci est appelé flux entrant et empêche les aérosols générés lors des manipulations microbiologiques de s'échapper par la partie avant du poste. Cependant, à l'inverse des postes de Classe I, le flux entrant des postes de Classe II traverse une veine de garde proche de l'opérateur.

Le flux d'air pénétrant la zone de travail est intégralement filtré pour qu'ainsi le produit à l'intérieur de la zone de travail ne soit pas contaminé par l'air extérieur.

Une caractéristique unique aux postes de Classe II est le flux d'air laminaire (unidirectionnel) descendant et vertical filtré par un filtre HEPA à l'intérieur du poste. Ceci, appelé flux descendant, permet d'évacuer continuellement les particules et contaminants présents dans l'air et de protéger les échantillons manipulés à l'intérieur du poste de toutes contaminations.

Les différences entre les nombreux postes de Classe II disponibles résident dans un premier temps dans le pourcentage d'air évacué et d'air recirculant à partir du plénum principal. Dans un second temps, les postes de Classe II possèdent différents moyens d'extraction. Certains postes peuvent évacuer l'air directement dans le laboratoire, alors que d'autres doivent évacuer l'air à travers un conduit d'évacuation dédié.

Malgré ces différences, tous les postes de sécurité microbiologique de Classe II, tout comme les postes de sécurité microbiologique de Classe I, protègent à la fois l'opérateur et l'environnement de toutes expositions aux agents biologiquement dangereux. De plus, les postes de Classe II protègent également les échantillons de toutes contaminations lorsque les manipulations microbiologiques sont conduites à l'intérieur du poste et sont tous fiables pour un travail avec des agents de niveau de sécurité biologique de niveau 1, 2, et 3.

## Poste de Sécurité Microbiologique de Classe II Type A (A1/A2)

Le poste de sécurité microbiologique de Classe II Type A est le plus commun des postes de sécurité microbiologique de Classe II. Il est également le plus commun de tous les postes de sécurité microbiologique disponibles, tous confondus. Il possède un plenum commun qui évacue 30% de l'air et en fait recirculer 70% dans la zone de travail en flux descendant.

Les postes de type A évacuent directement l'air dans le laboratoire, et peuvent contenir des plenums contaminés à pression positive. Lorsque des éléments chimiques toxiques doivent être utilisés comme complément aux procédures microbiologiques, ces postes ne doivent pas être utilisés. La filtration HEPA enlève uniquement les particules aérosols comprenant des éléments biologiquement dangereux, pas les fumées chimiques.

Avec la nouvelle norme NSF/ANSI 49:2010, les postes de Classe II de Type A1 et A2 doivent avoir leur plenum contaminé à pression positive entouré par une pression négative. Dans le cas d'une fuite du plenum positif, la fuite d'aérosol sera ramenée vers le plenum à pression positive par la pression négative, empêchant ainsi toute fuite vers l'extérieur. Dans les postes de Type A2, environ 70% de l'air présent de le plenum positif est renvoyé vers l'intérieur en flux descendant, et les 30% restant sont évacués vers le laboratoire via un filtre dédié à l'évacuation.



Image 1. PSM de Classe II Type A2

## Poste de Sécurité Microbiologique de Classe II Type B

La principale différence entre un poste de Type A et un poste de Type B est que le second fonctionne avec un ventilateur externe qui évacue l'air vers l'environnement extérieur à travers un système de conduit dédié. Sans le ventilateur externe, le ventilateur interne du poste renverrait l'air (et les agents microbiologiques) dans la zone de travail et à travers l'ouverture frontale, sur le visage de l'opérateur, créant ainsi une situation de danger. Ce poste ne s'équilibre pas automatiquement, dans le sens où son propre ventilateur est uniquement capable de créer un flux descendant, et que le poste dépend du ventilateur externe pour créer un flux entrant.

Sur tous les postes de Type B, la protection de l'environnement peut être améliorée en installant un système d'épuration entre le poste et le point d'évacuation final à l'extérieur du bâtiment pour neutraliser les fumées chimiques présentes dans l'air évacué.

De plus les postes de Type B sont communément utilisés lorsque des agents chimiques sont impliqués dans les procédures expérimentales. Ils offrent théoriquement un niveau supérieur de sécurité comparé à celui offert par ceux de type A. En évacuant l'air directement vers l'environnement extérieur, une « faille de sécurité » peut être rencontrée dans l'éventualité où la filtration HEPA cesserait de fonctionner.

### Poste de Sécurité Microbiologique de Classe II Type B1

Le poste de sécurité de Classe II Type B1 a été originellement créé pour l'Institut National Américain contre le Cancer. Il possède un plénum commun qui évacue 70% de l'air et en fait recirculer 30% sur la zone de travail via un flux descendant.

Les postes de Type B1 ont également une caractéristique d'extraction dédiée à l'élimination de la recirculation vers l'arrière lorsque les manipulations sont conduites à l'intérieur du poste. Les agents chimiques toxiques employés comme complément lors des procédures microbiologiques doivent uniquement être employés s'ils n'interfèrent pas avec la manipulation lorsque le flux d'air descendant est recirculé.

8

### Poste de Sécurité Microbiologique de Classe II Type B2

Dans le poste de Classe II Type B2 à la fois les flux entrants et descendants sont évacués après une filtration HEPA vers l'environnement extérieur sans recirculation dans le poste. Les postes de Type B2 sont adaptés pour un travail avec des agents chimiques toxiques employés comme complément lors des manipulations microbiologiques sous n'importe quelles conditions vu qu'aucun flux d'air n'est recirculé. En théorie, les postes de Type B2 peuvent être considérés comme les postes de sécurité microbiologique de Classe II les plus sûrs car toutes les possibilités d'extraction se bloquent lorsque les systèmes de filtration HEPA du flux d'air descendant / ou d'évacuation rencontrent



Image 2. PSM de Classe II Type B2



une faille de sécurité en ne fonctionnant plus normalement.

## Postes de Sécurité Microbiologique de Classe III

Le poste de sécurité microbiologique de Classe III offre un niveau de sécurité absolu, qui ne peut être atteint avec les postes de sécurité microbiologique de Classe I ou de Classe II. Tous les postes de Classe III sont habituellement construits avec du métal soudés conçu pour éviter toute fuite de gaz. Les manipulations sont effectuées à travers un port pour gants à l'avant du poste. Lors d'opération courante, une pression négative relative à l'environnement ambiant est maintenue dans le poste. Cela offre une protection supplémentaire dans le cas où le confinement physique serait compromis.

Sur tous les postes de Classe III, un approvisionnement en air ayant subi une filtration HEPA offre une protection du produit et évite toutes contaminations croisées des échantillons. L'air évacué est habituellement filtré via un filtre HEPA et incinéré.

Autrement, une double filtration HEPA avec deux filtres en série peut être utilisée. Les matériaux sont transférés dans le poste en utilisant une boîte de passage installée sur le côté de la zone de travail. Les postes de Classe III évacuent habituellement l'air dans le laboratoire ; néanmoins, l'air peut être également évacué à travers un système de conduit dédié vers l'environnement extérieur. Lorsque le système de conduit dédié est utilisé, les postes sont adaptés pour un travail avec agents chimiques toxiques utilisés comme complément lors des procédures microbiologiques.

9



Image 3. PSM de Classe III

**ESCO**

WORLD CLASS. WORLDWIDE.

Tous les postes de sécurité microbiologique de Classe III sont adaptés pour un travail avec des agents microbiologiques de niveau 1, 2, 3, et 4. Ils sont communément utilisés lors de manipulation d'agents biologiques mortellement dangereux.

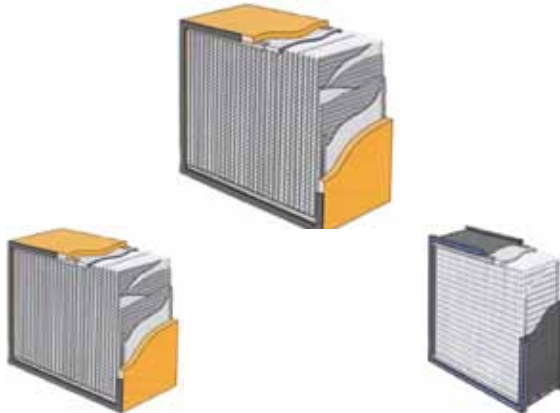
## Filtre HEPA & ULPA

Le filtre HEPA est le cœur du poste de sécurité microbiologique. Un filtre HEPA est un filtre sec, jetable, fait de microfibres borosilicates condensés en un papier fin comme une feuille de papier.

- HEPA: **H**igh **E**fficiency **P**articulate **A**ir: Nouvelle « Convention Américaine » HEPA: 99,99% à 0,3 micron
- ULPA: **U**ltra **L**ow **P**enetration **A**ir: Nouvelle « Convention Américaine » ULPA: 99,999% entre 0,1 et 0,3 micron

## Fabrication du filtre HEPA / ULPA:

*Image 4. L'ensemble est collé au cadre – Le cadre est entouré d'un joint pour former l'assemblage final*



**Image 5.** Type avec Séparateur

- Utilise un séparateur tranchant en aluminium
- Le séparateur peut endommager les matériaux
- Moins d'espace (partagé avec le séparateur)

**Image 6.** Type sans Séparateur

- Pas de séparateur en aluminium
- Plus sûr pour les matériaux
- Espace plus grand

Les filtres HEPA/ ULPA sont conçus pour enlever un large panel de contaminants et de particules présents dans l'air incluant:

- Particules fines
- Fumée
- Bactérie (taille typique: 500 à 0,3 microns)
- Suie
- Pollen
- Particules radioactives
- Ions impures -> peut affecter la vitesse du circuit intégré
- Virus (car ce sont des parasites, donc s'attachent aux cellules)

### III. CORRECTE SÉLECTION, INSTALLATION ET UTILISATION DES PSM

#### A. Sélection d'un Poste de Sécurité Microbiologique

Un PSM doit être choisi avant tout en accord avec le type de protection nécessaire : protection du produit, protection du personnel contre les microorganismes à risque de niveau 1 à 4, protection du personnel contre les agents chimiques toxiques volatiles et les radionucléides, ou une combinaison de ces derniers. Le tableau 3 montre quel PSM est recommandé en fonction du type de protection.

**Tableau 3.** Sélection du Poste de Sécurité Microbiologique

Type de Protection	Sélection du PSM
Protection du Personnel, Microorganismes à Risque de Niveau 1 à 3	Classe I, Classe II, Classe III
Protection du Personnel, Microorganismes à Risque de Niveau 4, Boîte à Gants de Laboratoire	Classe III
Protection du Personnel, Microorganismes à Risque de Niveau 4, Combinaison de Laboratoire	Classe I, Classe II
Protection du Produit	Classe II, Classe III
Radionucléides Volatiles / Protection contre les Agents Chimiques, Air Recirculé Derrière la Zone de Travail	Classe II Type B1, Classe II Type A2 ventilé vers l'extérieur
Radionucléides Volatiles / Protection contre les Agents Chimiques, Pas d'Air Recirculé Derrière la Zone de Travail	Classe I, Classe II Type B2, Classe III ventilé vers l'extérieur

11

Source: **Laboratory Biosafety Manual**. Second Edition (revised). Interim guidelines. World Health Organization. p29.

Les agents chimiques toxiques et volatiles ne doivent pas être utilisés dans les PSM faisant recirculer l'air évacué dans la pièce, ex : les postes de Classe I qui ne sont pas reliés au système d'évacuation du bâtiment, ou les postes de Classe II Type A1 ou les postes de Classe II Type A2. Les postes de Classe II Type B1 sont acceptables pour un travail de quelques minutes avec des agents chimiques volatiles et radionucléides si les fumées sont générées et dirigée vers l'arrière de la zone de travail. Les postes de Classe II Type B2, également appelés postes de sécurité à évacuation totale, peuvent fournir une meilleure protection contre les agents chimiques volatiles ou les radionucléides, ces derniers peuvent être placés n'importe où dans la zone de travail, non uniquement à l'arrière comme sur les postes de Classe II Type B1.

## B. Utilisation d'un Poste de Sécurité Microbiologique en Laboratoire

### 1. Placement

La vitesse du flux d'air à travers l'ouverture frontale du PSM est d'environ 0,45-0,53 m/s.

A cette vitesse l'intégrité du flux d'air directionnel entrant est fragile et peut être facilement interrompu par des courants d'air générés par des personnes marchant à proximité du PSM, des fenêtres ouvertes, les systèmes d'aération, et des ouvertures et fermetures de portes.

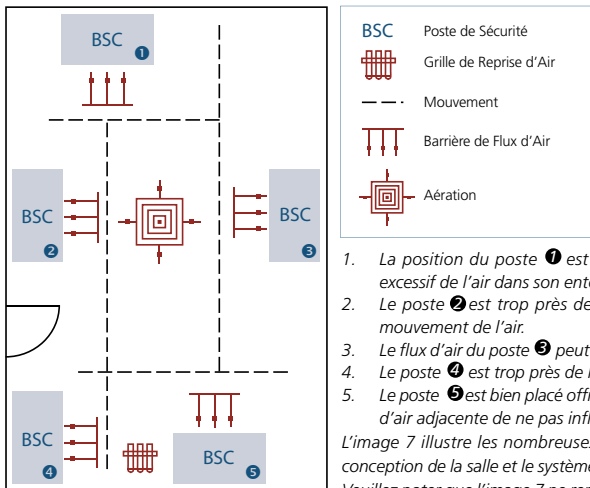
Idéalement, les PSM devraient être placés dans un endroit éloigné de tout trafic ou de tous courants d'air pouvant potentiellement affecter le PSM. Un espace libre de 30 cm, quelles que soient les conditions, doit toujours être disponible derrière le poste et sur chaque côté pour faciliter l'accès lors d'un entretien de maintenance. Un espace de 30 à 35 cm environ au-dessus de chaque poste est requis pour permettre une mesure précise de la vitesse de l'air à travers le filtre d'évacuation et pour les changements de filtre d'évacuation.

### 2. Opérateurs

Si les PSM ne sont pas utilisés correctement, leur intérêt en termes de protection peut être grandement réduit. Les opérateurs doivent faire attention à maintenir l'intégrité du flux d'air entrant à travers l'ouverture frontale lorsqu'ils mettent ou enlèvent leur bras du poste. Les bras doivent être insérés et retirés délicatement, perpendiculairement à l'ouverture frontale.

Les manipulations de matériels dans les PSM doivent être reportées d'une minute après le placement des bras à l'intérieur permettant au poste d'ajuster et de « balayer l'air » sur la surface des mains et des bras. Le nombre de mouvements à travers l'ouverture frontale doit également être minimisé en plaçant tous les éléments nécessaires dans le poste avant de commencer les manipulations.

12



**Image 7.** Une Installation Typique de Postes de Classe II

1. La position du poste ① est appropriée car évite tout mouvement excessif de l'air dans son environnement.
2. Le poste ② est trop près de la porte et peut être influencé par le mouvement de l'air.
3. Le flux d'air du poste ③ peut être influencé par le mouvement de l'air.
4. Le poste ④ est trop près de la porte.
5. Le poste ⑤ est bien placé offrant ainsi la possibilité à la grille de reprise d'air adjacente de ne pas influencer le flux d'air du poste.

L'image 7 illustre les nombreuses sources de perturbations dues par la conception de la salle et le système de ventilation sur le flux d'air du poste. Veuillez noter que l'image 7 ne représente pas une installation type. Il n'est absolument PAS recommandé d'avoir tant de postes dans une même pièce de cette taille, ou aussi proche les uns des autres.

### 3. Placement du Matériel

La veine de garde frontale des PSM de Classe II ne doit pas être bloquée avec du papier, par des équipements ou tout autre élément. Le matériel placé à l'intérieur du poste doit avoir une surface décontaminée avec de l'alcool 70°. Le travail peut être effectué sur des serviettes absorbantes imprégnées de désinfectant pour récupérer les éclaboussures. Tout le matériel doit être placé le plus que possible au fond du poste, vers les angles arrière de la surface de travail, de façon à ce qu'ils soient facilement accessibles sans bloquer la grille arrière. Les équipements générant des aérosols (ex : mixeurs, centrifuges, etc.) doivent être placés à l'arrière du poste. Les éléments volumineux, comme les sacs pour matières infectieuses, plateau pour pipette et flacons d'aspiration doivent être placés sur un côté à l'intérieur du poste. Un travail intensif doit être effectué de la partie propre vers la partie contaminée de la zone de travail.

Le sac autoclave pour matière infectieuse et le plateau pour pipette ne doivent pas être placés à l'extérieure du poste. Les mouvements fréquents de vas et vient nécessaires pour utiliser ces réceptacles peuvent nuire à l'intégrité de la barrière à air du poste, et peuvent compromettre la protection à la fois du personnel et du produit.

### 4. Utilisation et Maintenance

La plupart des PSM sont conçus pour une utilisation 24 heures/jour, et les chercheurs ont d'ailleurs constaté qu'une utilisation en continue aide à contrôler les niveaux de poussière et de particule dans le laboratoire.

Les PSM de Classe II Type A1 et de Type A2 évacuant l'air vers la salle ou étant connectés par cartouche d'extraction au conduit d'évacuation dédié peuvent être éteint lorsqu'ils ne sont pas utilisés. Les autres types de PSM tel que ceux de Classe II Type B1 et Classe II Type B2, qui possèdent un conduit fixe, doivent avoir un flux d'air en continu pour maintenir l'équilibre de l'air de la salle.

Les postes doivent être allumés au moins pendant 5 min avant le début des opérations et après la fin du travail pour « purger » le poste, ex : pour permettre à l'air contaminé d'être évacué de l'environnement du poste.

Toutes réparations sur les PSM doivent être effectuées par un technicien qualifié. Toute mal fonction du PSM doit être rapportée avant que le poste ne soit réutilisé.

### 5. Lampes Ultraviolettes

Les lampes ultraviolettes ne sont pas requises pour les PSM. Si elles sont utilisées, elles doivent être nettoyées chaque semaine pour enlever toute poussière ou saleté qui pourrait bloquer l'effet germicide des lampes. L'intensité de la lumière ultraviolette doit être vérifiée lorsque le poste est recertifié pour s'assurer que l'émission de lumière soit appropriée. Les lampes ultraviolettes doivent être éteintes lorsque la pièce est occupée, pour protéger les yeux et la peau de l'opérateur de toute exposition. Les lampes ultraviolettes ne remplacent pas une décontamination régulière de la surface de travail du PSM.

## 6. Flammes Nues

Les flammes nues doivent être évitées à proximité de la zone sans microbe à l'intérieur du PSM. Elles interrompent le schéma de flux d'air et peuvent être dangereuses lorsque des substances volatiles inflammables sont utilisées. Pour stériliser la boucle bactériologique, des micro incinérateurs ou « fourneaux » électriques sont disponibles et sont préférés aux flammes nues.

## 7. Débordement et Eclaboussures

Une copie du protocole de laboratoire indiquant comment gérer les débordements et éclaboussures doit être diffusée, lue et comprise par tous ceux qui utilisent le laboratoire. Lorsqu'un débordement de produit biologiquement dangereux se produit à l'intérieur du PSM, le nettoyage doit être immédiat, tout en laissant le poste en fonctionnement. Un désinfectant efficace doit être employé et utilisé de façon à générer le moins d'aérosols que possible. Tout le matériel entrant en contact avec l'agent ayant débordé doit être désinfecté et/ou mis sous autoclave.

## 8. Certification Annuelle

Le fonctionnement et l'intégrité de chaque PSM doit être certifié par les normes nationales et internationales de performance au moment de l'installation et régulièrement après par des techniciens qualifiés, selon les instructions du fabricant.

14

L'évaluation de l'efficacité du confinement du poste doit inclure les tests d'intégrité du PSM, des fuites provenant du filtre HEPA, de vitesse du flux descendant, de vitesse frontale, de pression négative / taux de ventilation, de schéma de fumée suivant le flux d'air, d'alarme et de verrouillage.

Les tests optionnels de faille électrique, d'intensité de la lumière, d'intensité de la lumière ultraviolette, du niveau de bruit et de vibration peuvent être également conduits. Un entraînement spécial, des compétences et des équipements spécifiques sont requis pour effectuer ces tests et il est fortement recommandé qu'ils soient effectués par un professionnel qualifié.

## 9. Nettoyage et Désinfection

Tous les éléments à l'intérieur du PSM, incluant les équipements, doivent avoir leurs surfaces décontaminées et doivent être retirés du poste lorsque le travail est terminé, car des résidus de matière en culture peuvent offrir une opportunité de développement pour les microbes. Les surfaces intérieures du PSM doivent également être décontaminées avant et après chaque utilisation. Les surfaces de travail et les parois intérieures doivent être essuyées avec un désinfectant capable d'éliminer tous microorganismes pouvant se trouver à l'intérieur du poste. A la fin de la journée de travail, la décontamination finale de la surface de travail doit comprendre un essuyage de celle-ci, des parois, de l'arrière et de l'intérieur des vitres. Une solution à base de javel ou à base d'alcool à 70°C doit être utilisée pour être efficace contre ce genre d'organismes. Un second essuyage à l'eau stérile est nécessaire lorsqu'un désinfectant corrosif, comme la javel, est employé. Il est recommandé que le poste reste en fonctionnement. S'il ne l'est pas, il doit rester allumé pendant 5 min afin de purger l'atmosphère à l'intérieur avant de l'éteindre.

## 10. Décontamination

Les PSM doivent être décontaminés avant le changement de filtre et avant qu'ils ne soient déplacés. La méthode la plus commune de décontamination est par fumigation avec du gaz formaldéhyde. Dans certains pays européens où le formaldéhyde est interdit, la décontamination est effectuée en utilisant du dioxyde de chlore ou du peroxyde d'hydrogène (méthode STERIS et BIOQUELL). La décontamination d'un poste PSM doit être effectuée par un professionnel qualifié.

## 11. Equipement de Protection du Personnel

Des vêtements de protection pour le personnel doivent être portés lors de l'utilisation d'un PSM. Les blouses de laboratoire sont acceptables pour un travail avec des agents de niveaux 1 et 2. Une blouse de laboratoire avec une partie avant rigide, et une partie dorsale fermée prodigue une meilleure protection et doit être utilisée avec des agents de niveau 3 et 4 (sauf dans les laboratoires adaptés). Les gants doivent recouvrir la blouse au niveau des poignets plutôt que d'être portés sous la blouse. Des manches élastiques peuvent être portées pour protéger les poignets des chercheurs. Des masques et lunettes de sécurité peuvent être nécessaires pour certaine procédure.

## 12. Alarmes

Les PSM peuvent être équipés d'une ou deux sortes d'alarme. Les alarmes pour la vitre de sécurité se trouvent uniquement sur les postes équipés d'une vitre de sécurité coulissante. L'alarme notifie à l'opérateur que la vitre est dans une position inappropriée. Une fois la vitre de retour dans une position convenable, l'alarme cessera de fonctionner. Les alarmes de flux d'air indiquent que le schéma de flux d'air du poste est interrompu ou anormal. Cela représente un danger immédiat pour l'opérateur et le produit. Lorsque l'alarme de flux d'air retentit, le travail doit immédiatement cesser et le responsable du laboratoire avertit. Le manuel d'instruction du fabricant doit fournir des informations plus détaillées. La formation à l'utilisation des PSM doit couvrir ce thème.

15

## 13. Informations Supplémentaires

Sélectionner le bon type de PSM, l'installer, l'utiliser correctement et faire certifier son fonctionnement chaque année sont des procédures complexes et demande une réflexion approfondie. Il est fortement recommandé que ces actions soient supervisées par un professionnel formé et expérimenté à la sécurité biologique. Le professionnel doit être familier avec les livres et documents listés dans la section référence, et doit avoir été formé à tous les aspects des PSM. Les opérateurs doivent recevoir une formation formelle au fonctionnement et à l'utilisation d'un PSM.

## C. Utilisation des Postes de Sécurité Microbiologique en toute Sécurité

### 1. Démarrage

- Portez des gants pour protéger vos mains
- Mettez en place dans le poste tous les équipements dont vous aurez besoin avant de commencer le travail et décontaminez les
- Décontaminez la surface de travail, les parois latérales et la face arrière intérieure
- Permettez à l'air de purger la zone de travail pendant quelques minutes avant de commencer le travail
- Ne surchargez pas la zone de travail
- Fermez la vanne de drainage avant toutes manipulations

### 2. Utilisation

- N'obstruez pas les grilles d'entrée et de sortie de l'air
- Travaillez aussi loin du poste que possible
- Minimisez les mouvements de bras; faites des mouvements lents pour éviter toute interruption du flux d'air du poste
- Lorsque vous voulez retirer vos bras du poste, assurez-vous avant d'avoir décontaminé la surface de travail, et seulement ensuite retirez vos bras doucement du poste (perpendiculairement à l'ouverture de la zone de travail)
- Minimisez toutes perturbations extérieures pouvant affecter le flux d'air
- Travaillez en allant de la zone « propre » vers la zone « sale »
- Les sacs pour matières infectieuses doivent être placés à l'intérieur du poste et non à l'extérieur
- Utilisez des serviettes absorbantes sur la surface de travail, placez-les à un endroit judicieux pour minimiser la génération d'éclaboussure et d'aérosol dans l'éventualité d'un débordement
- Décontaminez la surface des éléments potentiellement contaminés avant de les retirer du poste
- Placez les instruments générateur d'aérosol aussi loin que possible à l'intérieur du poste
- Le matériel propre doit être placé au minimum à 150 mm des objets générateurs d'aérosol pour minimiser la contamination croisée
- Maintenez les couvercles au-dessus des assiettes / échantillons de façon à prévenir tout empiètement du flux descendant
- N'utilisez pas de flamme de gaz autant que possible car cela interfère avec le flux d'air
- Placez les équipements générant des turbulences dans l'air comme les centrifugeurs, mixeurs, ou accélérateurs dans le tiers à l'arrière du poste

### 3. Bec Bunsen

Les brûleurs peuvent causer la sortie de l'air présent dans le poste et mettre en danger l'opérateur. Sur les postes de Classe II, la protection contre la contamination croisée peut également être compromise. Des accidents se sont produits lorsque la vitre de sécurité du poste de sécurité de Classe II faisant recirculer l'air était fermée alors que le brûleur était toujours allumé, causant une augmentation de la température et endommageant les filtres.

*Sécurité pour bec Bunsen:*

- Un brûleur électronique réduisant automatiquement l'approvisionnement en gaz maintient une petite flamme pendant les périodes où celui-ci ne serait pas utilisé



- Une vanne d'extinction d'urgence doit être facilement accessible à proximité du poste.
- Le brûleur doit être placé aussi loin que possible dans le poste pour minimiser les effets sur la performance de ce dernier.
- Une vanne solénoïde peut être verrouillée avec l'alimentation en gaz pour éteindre automatiquement le brûleur

#### 4. Extinction

- Scellez les sacs pour matières infectieuses s'ils ont été utilisés
- Décontaminez la surface des parois intérieures du poste, de la surface de travail, de la plaque de drainage et de la partie intérieure de la vitre de sécurité
- Purgez à l'air la zone de travail
- Lorsque disponible : installez une fermeture frontale ou fermée la vitre de sécurité et activez les lampes UV (si vous le désirez)

#### 5. Maintenance

- Remplacement des préfiltres tous les 3 mois
- Remplacement des lampes UV une fois par an
- Vérification du fonctionnement si besoin (ex : vérification des alarmes, mesures de base du flux d'air, etc.)

17

## IV. DÉVERSEMENT DE MATIÈRES INFECTIEUSES ET PROCÉDURE DE NETTOYAGE

### A. A l'Intérieur du PSM :

- Attendez au moins cinq minutes pour permettre au PSM de contenir les aérosols.
- Portez une blouse, des lunettes de sécurité et des gants pendant le nettoyage.
- Laissez le poste en marche pendant le nettoyage.
- Utilisez un désinfectant et laissez en contact pendant au moins 20 minutes.
- Essuyez les éclaboussures avec une serviette absorbante imbibée de désinfectant.
- Essuyez toutes les parois de la surface de travail et des équipements avec une serviette absorbante imbibée de désinfectant.
- Éliminez tout matériel contaminé en utilisant les procédures appropriées pour matière biologiquement dangereuse (ex : autoclave ou BFI).
- Placez les éléments réutilisables contaminés dans un sac pour matières infectieuses, la surface sous autoclave avec les couvercles ou enveloppez la avec du journal avant de la mettre en autoclave et de la nettoyer.
- Désinfectez les éléments exposés ne pouvant pas être sous autoclave (pendant 20 min) avant de les enlever du PSM.
- Enlevez les vêtements de protection utilisés pendant le nettoyage et placez les dans un sac pour matières biologiquement dangereuses sous autoclave.
- Faites fonctionner le poste encore pendant 10 minutes après le nettoyage avant de reprendre le travail ou d'éteindre le poste.

**ESCO**

WORLD CLASS. WORLDWIDE.

### **B. A l'Intérieur du Laboratoire, A l'Extérieur du PSM:**

- Appelez le bureau de sécurité biologique si votre équipement est de niveau 2 ou d'un niveau de confinement supérieur.
- Espace libre de tout personnel. Attendez au moins 15 minutes pour que les aérosols se stabilisent avant d'entrée dans la zone de débordement.
- Enlevez tout vêtement contaminé et placez-les dans des sacs pour matières infectieuses pour qu'ils soient mis sous autoclave.
- Portez une blouse de laboratoire, des lunettes de sécurité et des gants.

*Démarrez le nettoyage avec un désinfectant comme suit:*

1. Placez la serviette de papier absorbante sur l'éclaboussure (pour absorber les liquides); ensuite placez une seconde serviette de papier, celle-ci imbibée de désinfectant, sur l'éclaboussure.
2. Encerchez l'éclaboussure avec un désinfectant additionnel pour minimiser l'aérosolisation lors du contact.
3. Décontaminez tous les éléments ayant été dans la zone d'éclaboussement.
4. Patientez 20 minutes pour que le germicide fasse son action désinfectante.
5. Essuyer les équipements avec le désinfectant approprié.
6. Éliminez tout matériel contaminé en utilisant les procédures appropriées pour matière biologiquement dangereuse (ex : autoclave ou BFI).
7. Désinfectez les éléments réutilisables.

### **C. A l'Intérieur de la Centrifugeuse**

- Espace libre de tout personnel.
- Attendez 30 minutes pour que les aérosols se stabilisent avant d'entrée dans la zone de débordement.
- Portez une blouse de laboratoire, des lunettes de sécurité et des gants pendant le nettoyage.
- Enlevez les rotors et seaux pour être plus proche du PSM lors du nettoyage.
- Désinfectez en profondeur l'intérieur de la centrifugeuse.
- Éliminez tout matériel contaminé en utilisant les procédures appropriées pour matière biologiquement dangereuse (ex : autoclave ou BFI).

### **D. A l'Extérieur du Laboratoire, en Mouvement**

- Transportez les matériaux marqués « danger biologique » dans un conteneur incassable et bien scellé de premier ordre recouvert d'un couvercle (bac réfrigéré, en plastique ou un seau) ayant le symbole du danger biologique.
- Dans le cas d'un déversement dans une zone publique, n'essayez pas d'y nettoyer sans un équipement approprié.
- Sécurisez la zone en éloignant toutes les personnes présentes autour.
- Appelez un professionnel pour vous assister lors du nettoyage.
- Patientez lors du nettoyage du déversement et n'intervenez que lorsqu'on vous le demande ou lorsque cela est nécessaire.

Source: *UCSD Biosafety Handbook, UCSD EH&S Biosafety Team 1996. THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA, USA.*  
p95-97.

**Tableau 3. Tableau de Décontamination**

Décontaminant	Glutaral-déhyde	Peroxyde/ Acide Péracétique/ Acide Acétique	Dioxyde de Chlore	Chlore	Iodophore	Alcool	Phénolique	Confinement Ammonium Quaternaire
<b>Classification</b>	Agent Stérilisant	Agent Stérilisant	Agent Stérilisant	Haut	Intermédiaire	Intermédiaire	Intermédiaire	Bas
<b>Paramètre d'utilisation:</b>								
Concentration	2%	1%	1:5:1/100-1000 ppm	0.01-5%	0.5-2.5%	70-85%	0.2-3%	0.1-2%
Temps de Contact (min.)	10-600	10-720	10-600	10-30	10-30	10-30	10-30	10-30
Stabilité > 1 semaine <sup>(1)</sup>	+		+		+	+	+	+
<b>Agents:</b>								
Bactérie Endospore	+	+	+	+/-				
Virus Nus	+	+	+	+	+/- (2)	+/- (2)	+/- (2)	
Mycobactérie	+	+	+	+	+	+	+	
Bactérie Végétative	+	+	+	+	+	+	+	+
Virus Enveloppé	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Caractéristiques:</b>								
Inactivité par les matières organiques		+		+	+	+	+/-	+
Résidus	+	+	+	+/-	+		+	
Corrosif		+		+	+		+	
Inflammable						+		
Irritant pour la peau	+	+	+	+	+		+	
Irritant pour les yeux	+	+	+	+	+	+	+	
Irritant respiratoire	+	+	+	+	+	+	+/-	
Toxique	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Utilisation dans PSM :</b>								
Décontamination Régulière des Surfaces				+/-	+	+		+
Déversement de matières biologiquement dangereuses		+/-	+	+/-	+		+	+/-

(1) Protégé de la lumière et de l'air

(2) Résultats dépendants des virus

+	Efficace
+/-	Efficacité Limitée
	Inefficace

## V. REFERENCES:

**User & Service Manual.** Labculture® Class II Type A2 Biohazard Safety Cabinet: ESCO Micro Pte Ltd.  
**Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL).** 4th Edition. Office of Health and Safety (OHS), Centers for Disease Control and Prevention (CDC), US Department of Health.  
**Laboratory Biosafety Manual.** Second Edition (revised). Interim guidelines. World Health Organization.  
**UCSD Biosafety Handbook,** UCSD EH&S Research Community for Biosafety. 1996.  
**UCSD Biosafety Handbook,** UCSD EH&S Biosafety Team 1996. THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA, USA.

**ESCO**

WORLD CLASS. WORLDWIDE.



*Le groupe Esco est un fournisseur d'outils pour les sciences de la vie ayant des ventes réparties dans plus de 100 pays. Le groupe est spécialisé dans les équipements de laboratoire, pharmaceutiques et médicaux. Les centres de productions sont basés en Asie et en Europe. La division R&D est répartie internationalement respectivement aux Etats-Unis, en Europe et en Asie. Les activités commerciales, de service et de marketing sont basées dans 12 des marchés les plus influents comprenant les Etats-Unis, le Royaume-Uni, Singapour, le Japon, la Chine et l'Inde. Les centres de distribution régionaux sont situés aux Etats-Unis, au Royaume-Uni, et à Singapour.*

Science de la Vie • Recherche Chimique • Fécondation in Vitro • Équipement Pharmaceutique • Équipement Général



# ESCO

## WORLD CLASS. WORLDWIDE.

Esco Technologies, Inc. • 2940 Turnpike Drive, Units 15-16 • Hatboro, PA 19040, USA  
Toll-Free USA and Canada 877-479-3726 • Tel 215-441-9661 • Fax 215-441-9660  
[us.escoglobal.com](http://us.escoglobal.com) • [usa@escoglobal.com](mailto:usa@escoglobal.com)

Esco Micro Pte. Ltd. • 21 Changi South Street 1 • Singapore 486 777  
Tel +65 6542 0833 • Fax +65 6542 6920 • [mail@escoglobal.com](mailto:mail@escoglobal.com)  
[www.escoglobal.com](http://www.escoglobal.com)

**Esco Global Offices** | Manama, Bahrain | Beijing, China | Chengdu, China | Guangzhou, China | Shanghai, China  
Bangalore, Indias | Delhi, India | Mumbai, India | Banten, Indonesia | Osaka, Japan | Kuala Lumpur, Malaysia  
Melaka, Malaysia | Manila, Philippines | Singapore | Midrand, South Africa | Seoul, South Korea | Salisbury, UK  
Philadelphia, PA, USA | Hanoi, Vietnam