

# Microbiologie.

## Bonnes pratiques d'utilisation d'un Poste de sécurité microbologique de type II au laboratoire analytique microbiologique.

Thierry BONNEVAY, Sylvie LANDRIU, Eric PETAT & Christian POINSOT → GIC A3P Microbiologie



Dans les laboratoires de microbiologie la maîtrise du risque biologique constitue un enjeu majeur pour la sécurité des manipulateurs, la conformité réglementaire et la fiabilité des analyses. Le poste de sécurité microbologique (PSM) occupe une place centrale dans la maîtrise de ce risque.

Les postes de sécurité microbologique (PSM) se déclinent principalement en trois catégories, chacune répondant à des niveaux de protection spécifiques.

Les PSM de type I assurent une protection de l'opérateur et de l'environnement grâce à un flux d'air entrant filtré puis rejeté par filtration HEPA, ces PSM ne protègent pas le produit manipulé de contamination externe car le flux est non stérile ; ils conviennent aux manipulations nécessitant une protection mais ne requérant pas un environnement stérile, comme certaines opérations sur des microorganismes de faible pathogénicité.

Les PSM de type II, les plus utilisés en laboratoire, offrent une triple protection : de l'opérateur, de l'environnement et du produit, y compris une protection contre la contamination croisée. Grâce à un flux d'air laminaire vertical filtré à travers des filtres HEPA ou ULPA, ils permettent de travailler en conditions aseptiques avec des agents biologiques des groupes de risque 2 ou 3, ou lors de manipulations nécessitant la protection du produit (culture cellulaire, microbiologie clinique, biotechnologies). Cette protection est d'autant plus importante pour les essais "low bioburden", la pharmacopée européenne indique pour les essais de dénombrements microbiens de "Réalisez le dénombrement dans des conditions permettant d'éviter toute contamination microbienne extrinsèque du produit à examiner".

Enfin, les PSM de type III, totalement confinés et hermétiques, fonctionnent en pression négative et garantissent un niveau maximal de protection. Les manipulations s'effectuent via des gants intégrés, ce qui les rend indispensables pour travailler avec des agents hautement pathogènes (groupe de risque 3 ou 4) ou pour des applications nécessitant un confinement biologique strict.

Cet article présente les caractéristiques, l'utilisation et l'entretien des postes de sécurité microbiologique (PSM) de type II, dispositifs de confinement les plus utilisés dans les laboratoires de contrôle qualité pharmaceutique.

Les normes de la série **EN 12469** (EN 12469-1 à EN 12469-5) constituent le **pilier réglementaire européen** encadrant la conception, l'installation, la performance et l'utilisation des **Postes de Sécurité Microbiologique (PSM)**.

Les informations fournies visent à garantir la protection des opérateurs, des échantillons et de l'environnement, tout en assurant une qualité optimale des processus de laboratoire.

## 1. Implantation

L'applicabilité de la norme dépasse la seule performance intrinsèque du PSM : elle influence directement la conception

et l'aménagement des laboratoires. Elle met en lumière la sensibilité des PSM aux perturbations aérodynamiques et conduit ainsi à recommander leur implantation loin des sources de turbulence (portes, fenêtres, bouches d'air, zones de passage). Le respect de ces recommandations conditionne le maintien d'un confinement optimal, en complément des exigences relatives à l'accessibilité des zones techniques pour la maintenance et les contrôles périodiques.

Les PSM sont sensibles aux perturbations aérodynamiques. Ainsi les turbulences localisées de l'air, les fluctuations de température, l'agencement de la pièce et les objets de grande taille peuvent avoir une influence sur les performances du PSM

Pour garantir un confinement optimal, on pourra retenir les principes suivants :

- **1,5 m** d'espace minimum **devant** le PSM
- **30 cm** d'espace minimum **aux côtés**
- **Zones de passage de 60 cm** minimum
- **Ne jamais** placer un PSM face ou proche d'une **porte, fenêtre, diffuseur d'air**
- **Prévoir 30 cm** au-dessus pour tester les filtres HEPA
- **Éviter d'installer deux PSM face à face** ; si cela est inévitable, prévoir **3 m** entre eux.

## 2. Caractéristiques des PSM de Type II

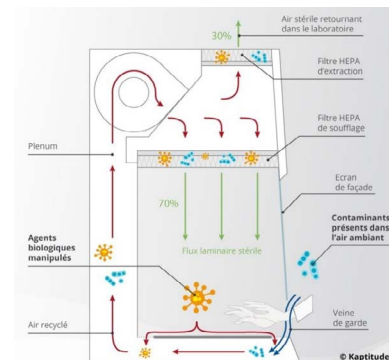
Au cœur de la norme se trouvent les **critères de performance aéraulique**, fondamentaux pour garantir l'intégrité du confinement. L'air entrant doit maintenir une vitesse minimale de **0,4 m/s**, assurant la barrière protectrice à l'ouverture frontale du poste, tandis que le flux laminaire descendant doit rester compris entre **0,25 et 0,5 m/s** pour préserver la stérilité du plan de travail.

Les nouvelles versions des normes EN 12469-1, EN 12469-2 et EN 12469-5, publiées en novembre 2025, ne définissent plus de valeurs de référence. Seules les spécifications du fabricant s'appliquent désormais en raison également de la réalisation d'un essai de protection de l'opérateur à faire à la mise en service et en routine (méthode à l'iodure de potassium).

Les PSM de type aspirent 30% de l'air ambiant, le filtrent, et réinjectent 70% de cet air sous forme de flux laminaire. La filtration repose sur des filtres HEPA H14 d'efficacité  $\geq 99,995\%$ , indispensables pour retenir les particules et aérosols contaminés. Au-delà de ces paramètres, la norme intègre également des

exigences ergonomiques importantes, telles qu'un niveau sonore  $\leq 65$  dB(A) et un éclairage minimal de **750 lux**, garantissant un environnement de travail sûr et confortable pour l'opérateur.

## Principe de fonctionnement :



- **Veine de garde** : Flux périphérique empêchant la fuite des aérosols hors de la zone de travail.
- **Grilles de reprise** : Ouvertures situées autour du plan de travail permettant la récupération du flux descendant.
- **Plénum** : Chambre interne où circule l'air avant distribution et filtration.
- **Motoventilateur** : Dispositif assurant l'aspiration et l'insufflation de l'air à travers les filtres HEPA.
- **Filtre HEPA d'extraction** : Filtre retenant les particules avant le rejet de l'air hors du PSM.
- **Filtre HEPA de soufflage** : Filtre délivrant l'air stérile pour le flux laminaire descendant.

*Blog Kaptitude article « Le poste de sécurité microbiologique (PSM) » du 23 juin 2020*

## 3. Utilisation

Avant l'introduction du matériel, le soufflage doit être mis en fonctionnement au moins **5 minutes si le PSM est en veille (ventilateur lent)** et 15 minutes s'il est complètement éteint afin de purger la zone de travail et d'établir un flux laminaire stable.

L'opérateur devra décontaminer les surfaces avec un produit approprié répondant aux critères de désinfection adaptés à l'activité.

Il devra ensuite organiser l'espace de travail en positionnant les matériaux propres dans une zone bien identifiée, par exemple à gauche du plan de travail et les déchets biologiques dans une zone non concomitante, par exemple à droite du plan de travail, afin de préserver la protection du produit.

Toute procédure générant des aérosols (incluant pipetage, homogénéisation,

ouverture de tubes sous pression ou manipulation d'agents infectieux) doit impérativement être réalisée à l'intérieur du PSM afin d'assurer les trois niveaux de protection : **personnel, environnement et produit**.

Durant la manipulation, il convient d'éviter tout mouvement brusque, toute obstruction des grilles de reprise, ainsi que toute introduction de matériel volumineux susceptible de perturber les vitesses des flux.

Les objets entrant dans l'enceinte seront limités aux indispensables et la décontamination de ces derniers avant introduction sous le flux permettra d'éviter les risques de contamination.

Durant la manipulation, il convient de nettoyer immédiatement les résidus d'éléments nutritifs (comme les géloses et bouillons) ou de germes pour prévenir tout risque de prolifération

À l'issue des manipulations, la procédure de sortie doit être conduite de manière à garantir la décontamination de la zone de travail et la restauration d'un flux d'air stable avant l'arrêt du dispositif. Il est nécessaire de **laisser le motoventilateur fonctionner pendant au moins 10 minutes** après la fin des opérations afin de permettre la purge complète de la zone de travail et l'élimination des aérosols résiduels. Durant cette phase, l'opérateur évacue méthodiquement le matériel utilisé en respectant le principe de flux unidirectionnel : les matériaux contaminés sont retirés en dernier afin de minimiser toute re mise en suspension d'agents biologiques.

Une fois la purge terminée, la surface de travail doit être **décontaminée avec un désinfectant approprié** comme décrit dans la paragraphe suivant.

Après décontamination, l'opérateur retire lentement les mains du PSM en évitant de briser brutalement le rideau d'air. Le PSM peut être arrêté ou laissé en fonctionnement selon les consignes internes du laboratoire et les besoins opérationnels.

Enfin, un lavage des mains rigoureux constitue une mesure indispensable pour assurer la sécurité du technicien et prévenir toute dissémination de contaminants hors du laboratoire. Le port de gants et de manchettes est également fortement recommandé afin de renforcer la protection individuelle.

## 4. Nettoyage

La décontamination régulière d'un poste de sécurité microbiologique (PSM) de type II constitue une étape essentielle au

maintien du confinement primaire et à la prévention des contaminations croisées. On distingue, le nettoyage systématique réalisé après chaque manipulation et le nettoyage complet périodique, réalisé selon une fréquence régulière définie dans chaque laboratoire.

### Nettoyage systématique après chaque manipulation.

À l'issue de chaque session de travail, un nettoyage de surface doit être réalisé afin d'éliminer les dépôts microbiens et les résidus générés au cours des manipulations.

Les recommandations de bonnes pratiques préconisent de **retirer les consommables et matériaux utilisés, puis de désinfecter intégralement les surfaces internes**, incluant le plan de travail et les parois latérales avec un désinfectant adapté non corrosif. Après la désinfection, une courte phase de purge de l'enceinte (généralement 5 à 10 minutes) permet d'éliminer les aérosols résiduels. Ce nettoyage systématique doit être effectué **avant et après chaque utilisation** afin de maintenir l'intégrité microbiologique du flux laminaire et d'assurer une protection optimale du produit et du personnel.

### Nettoyage périodique complet.

En complément du nettoyage courant, un **nettoyage complet** doit être réalisé à une fréquence définie dans les procédures internes de chaque laboratoire incluant notamment **le démontage du plan de travail et des grilles de reprise**, suivi d'une désinfection approfondie des surfaces internes et du **bac de récupération au moyen d'un agent désinfectant approprié**

### Procédure de décontamination approfondie.

Dans certaines situations (avant remplacement des filtres HEPA ou toute intervention interne sur le PSM, après un déversement majeur ou lors d'un transfert du PSM vers un autre local) une **décontamination par voie aérienne** à l'aide de stérilisants appropriés (formaldéhyde, peroxyde d'hydrogène vaporisé, etc.), peut être requise. Cette procédure permet d'atteindre les composants internes non accessibles par un nettoyage de surface (plénum, soufflage, extraction, moteur-ventilateur

## 5. Entretien et contrôle

Un entretien régulier des PSM est indispensable pour garantir leur bon fonctionnement.

Les lampes ultraviolettes ne sont pas requises pour les PSM, cependant,

si elles sont utilisées, il est essentiel de les nettoyer chaque semaine pour enlever toute poussière ou saleté qui pourrait bloquer leur effet germicide et de contrôler l'intensité de la lumière ultraviolette à chaque qualification du PSM pour s'assurer que l'émission de lumière soit appropriée.

La durée de vie efficace de ces lampes est limitée Il sera également nécessaire d'en assurer le suivi pour planifier leur changement au bout du temps préconisé.

Les lampes ultra violettes ne remplacent pas une décontamination régulière de la surface de travail du PSM et doivent impérativement être éteintes lorsque la pièce est occupée, afin de protéger les yeux et la peau de l'opérateur de toute exposition nocive.

Dans les faits l'utilisation des lampes UV sous les PSM n'ont pas apporté la preuve d'une réelle efficacité supplémentaire et ne sauraient se substituer à une procédure rigoureuse de nettoyage et de désinfection de ces appareils.

Un **nettoyage et une désinfection rigoureux et réguliers** des surfaces du PSM constituent la méthode la plus fiable et la plus efficace pour garantir la maîtrise du risque biologique.

L'INRS spécifie ceci sur les UV :

### Utilisation des lampes U.V. GERMICIDES.

#### USE OF U.V. GERMICIDE LAMPS

Il est rappelé que les lampes U.V. germicides sont inefficaces pour traiter l'air circulant dans le poste de sécurité et que l'émission des lampes décroît très rapidement dans le temps. Par contre, elles peuvent être efficaces pour décontaminer un plan de travail si celui-ci a été infecté par des micro-organismes sensibles aux U.V.

Naturellement, les U.V. ne devront être utilisés que lorsque le PSM est arrêté et fermé, hors présence humaine.

En cas d'implantation de lampes U.V. dans le poste, il est indispensable :

- 1- de veiller à ce que leur localisation ne nuise pas à l'écoulement du flux descendant,
- 2 - de s'assurer de leur efficacité sur les micro-organismes à éliminer (positionnement, puissance et durée de vie des lampes, temps de contact nécessaire).

La maintenance préventive doit être réalisée par un personnel qualifié et comprend des opérations visant à prévenir les défaillances pouvant compromettre le confinement. Parmi ces interventions :

- la vérification du fonctionnement du **motoventilateur**
- l'inspection du système électrique, de l'éclairage et de la qualité acoustique,
- la vérification du bon état mécanique des composants internes accessibles après démontage (plénum, grilles, bac de récupération)
- la conformité du PSM doit être vérifiée au minimum **une fois par an**, ainsi qu'après tout événement susceptible d'altérer ses performances (déménagement, maintenance lourde, changement de filtre HEPA ou intervention interne). Les réglementations et guides institutionnels exigent que les PSM soient **certifiés selon les normes NSF/ANSI 49 ou EN 12469** par un organisme agréé, afin de garantir que les vitesses d'inflow, de downflow, l'intégrité des filtres HEPA et la qualité du rideau d'air frontal répondent aux critères normatifs.

- Enfin, après toute opération de maintenance impliquant l'ouverture de zones internes ou le remplacement de filtres, une **re-certification** complète du PSM est obligatoire afin de valider son retour en service dans un cadre conforme et sécurisé.

## Conclusion.

Les PSM de type II sont des outils essentiels pour assurer la sécurité et la qualité dans les laboratoires pharmaceutiques. Une utilisation appropriée et un entretien régulier sont indispensables pour maintenir leur efficacité et protéger les opérateurs, les échantillons et l'environnement.

## References

1. Guide INRS ND2001-193-03 Postes de sécurité microbiologique. Postes de sécurité cytotoxique - 2003
2. Biosafety Cabinet (BSC) Placement Requirements for new Buildings and Renovations NATIONAL INSTITUTES of HEALTH Division of Technical Resources Office of Research Facilities - 1996 - 2023
3. Biological Safety Cabinet (BSC) Cleaning: Below the Deck NIH Division of Occupational Health and safety - 2023
4. NF EN 12469-1 - 2025
5. NF EN 12469-2 - 2025
6. NF EN 12469-5 - 2025



# VOTRE EXPERT POUR LA SÉCURITÉ DES PRODUITS DE SANTÉ

NOTRE VOCATION : VOUS AIDER À PROUVER, SANS ÉQUIVOQUE, QUE VOS PROCÉDÉS SONT MAÎTRISÉS. AVEC ICARE, LA CONFORMITÉ DEVIENT UN ATOUT MESURABLE ET UN LEVIER DE PERFORMANCE.

## SUR QUELS PÉRIMÈTRES INTERVENONS-NOUS ?



ESSAIS DE LABORATOIRE



VALIDATION & QUALIFICATION



BIOCOMPATIBILITÉ & TOXICOLOGIE



CONSULTING & FORMATION

## À QUELLES ÉTAPES INTERVENONS-NOUS ?



CONCEPT & ÉTUDE DE FAISABILITÉ



CHOIX DES PROCESS DE FABRICATION



AUTORISATION DE MISE SUR LE MARCHÉ



PRODUCTION & DISTRIBUTION, SUIVI, ANALYSE, CONTRÔLE

## EN QUOI CONSISTE NOTRE ACCOMPAGNEMENT ?



DISPOSITIFS MÉDICAUX



INDUSTRIE PHARMACEUTIQUE



INDUSTRIE COSMÉTIQUE



SALLES PROPRES



Groupe Icare, a member of the Certania network

[www.groupeicare.com](http://www.groupeicare.com)

