

EXAMEN PROFESSIONNEL DE PROMOTION INTERNE D'INGÉNIEUR TERRITORIAL

SESSION 2016

ÉPREUVE DE PROJET OU ÉTUDE

ÉPREUVE D'ADMISSIBILITÉ :

L'établissement d'un projet ou étude portant sur l'une des options choisie par le candidat, au moment de son inscription.

Durée : 4 heures

Coefficient : 5

SPÉCIALITÉ : PRÉVENTION ET GESTION DES RISQUES

OPTION : HYGIÈNE, LABORATOIRES ET QUALITÉ DE L'EAU

À LIRE ATTENTIVEMENT AVANT DE TRAITER LE SUJET :

- ♦ Vous ne devez faire apparaître aucun signe distinctif dans votre copie, ni votre nom ou un nom fictif, ni votre numéro de convocation, ni signature ou paraphe.
- ♦ Aucune référence (nom de collectivité, nom de personne, ...) **autre que celles figurant le cas échéant sur le sujet ou dans le dossier** ne doit apparaître dans votre copie.
- ♦ Seul l'usage d'un stylo à encre soit noire, soit bleue est autorisé (bille non effaçable, plume ou feutre). L'utilisation d'une autre couleur, pour écrire ou pour souligner, sera considérée comme un signe distinctif, de même que l'utilisation d'un surligneur.
- ♦ L'usage de la calculatrice autonome et sans imprimante est autorisé.
- ♦ Le non-respect des règles ci-dessus peut entraîner l'annulation de la copie par le jury.
- ♦ Les feuilles de brouillon ne seront en aucun cas prises en compte.

Ce sujet comprend 64 pages

Il appartient au candidat de vérifier que le document comprend
le nombre de pages indiqué

S'il est incomplet, en avertir le surveillant

- ♦ Vous préciserez le numéro de la question et le cas échéant de la sous-question auxquelles vous répondrez.
- ♦ Des réponses rédigées sont attendues et peuvent être accompagnées si besoin de tableaux, graphiques, schémas...

L'aménagement des locaux des laboratoires doit répondre aux préoccupations particulières de santé publique.

Le laboratoire départemental au sein duquel vous venez d'être recruté comme ingénieur, décide de construire un nouveau laboratoire en confinement de niveau 3, pour augmenter ses capacités de diagnostic et de réponse aux exigences de contrôles réglementaires.

Le Directeur vous désigne chef de projet et vous demande de répondre aux questions suivantes.

Question 1 : (8 points)

Vous rédigerez une note à son attention portant sur les contraintes réglementaires, techniques et économiques liées à la mise en place d'un nouveau laboratoire de confinement de niveau 3.

Question 2 : (12 points)

Vous établirez un projet de mise en place de ce laboratoire de confinement de niveau 3 (par exemple pour la peste porcine classique).

Ce projet devra clairement intégrer :

- les axes budgétaires, techniques et managériaux ;
- les axes en matière d'assurance qualité, d'accréditation par le Comité Français d'Accréditation (COFRAC) et d'agrément ministériel.

Vous décrirez pour chaque axe les acteurs, la planification et le déroulement de cette mise en place.

Documents joints :

- Document 1 :** « Aménagement d'un laboratoire de biologie » - J. Simons - *INSERM* - Juin 2002 - 9 pages
- Document 2 :** « Guide pour la conception d'un laboratoire de confinement L3 » - *Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche* - 2001 - 7 pages.
- Document 3 :** « Programme Cofrac n°116 ; Essais et analyses en bactériologie animale » - Septembre 2003 - 31 pages.
- Document 4 :** « Exemple. Les laboratoires P3 » - *Site du technopôle Brest Iroise* - consulté en janvier 2016 - 4 pages.
- Document 5 :** « Note de service DGAL/SDPAL/2014-426 27/05/2014 » - *Ministère de l'Agriculture, de l'agro-alimentaire et de la forêt. Direction générale de l'alimentation* - 27 mai 2014 - 5 pages

Document 6 : « Etapes de conception et construction de bâtiment » -
www.architecte-batiments.fr - 19 avril 2015 – 5 pages.

Documents reproduits avec l'autorisation du CFC.

Certains documents peuvent comporter des renvois à des notes ou à des documents non fournis car non indispensables à la compréhension

DOCUMENT 1

AMENAGEMENT D'UN LABORATOIRE DE BIOLOGIE

J. SIMONS. Chargé de mission Veille Technologique.
Inserm. Bureau des Conditions de Travail

Le propos de ce texte se limite à l'aménagement des structures dans lesquelles sont manipulés des agents biologiques traditionnels ou génétiquement modifiés, pathogènes pour l'homme.

RAPPELS SUR LES AGENTS BIOLOGIQUES ET LEUR CONDITION DE MANIPULATION

Le terme *Agent Biologique* regroupe au sein d'une même catégorie les micro-organismes, les cultures de cellules et les agents non conventionnels. Les agents biologiques traditionnels font l'objet d'une classification qui figure dans un **arrêté du 17 juillet 1994** et régulièrement mise à jour en fonction de l'évolution des connaissances. Celle-ci les regroupe en 4 classes ou groupes de risque croissant.

<i>Groupe 1</i>	<i>Groupe 2</i>	<i>Groupe 3</i>	<i>Groupe 4</i>
Agent biologique non susceptible d'être pathogène pour l'homme	Agent biologique modérément pathogène pour l'homme. Sa transmission à l'environnement est peu probable. Il existe une prophylaxie ou un traitement	Agent biologique pathogène pour l'homme. Sa transmission à l'environnement est aisée. Il existe une prophylaxie ou un traitement	Agent biologique fortement pathogène pour l'homme. Sa transmission à l'environnement est aisée. Il n'existe ni prophylaxie ni traitement

Tableau 1 : La classification des agents biologiques traditionnels pathogènes pour l'Homme

Pour les Organismes Génétiquement Modifiés (OGM), leur classification est basée sur celle des Agents biologiques traditionnels. Mais l'élément pris en compte pour la classification est l'organisme qui résulte de l'association de l'hôte, du vecteur et de l'insert.

Les conditions de manipulation de ces agents biologiques ou de ces OGM sont résumées dans le concept de Niveaux de Sécurité Biologique ou Biological Safety Level souvent abrégé en "L". Ce concept associe à parts égales mais avec des rôles distincts, le laboratoire de confinement, les matériels et les bonnes gestuelles de laboratoire :

- le laboratoire de confinement a pour **unique objectif** de protéger l'extérieur,
- les matériels assurent la **protection collective** des expérimentateurs travaillant dans le laboratoire de confinement,
- les bonnes gestuelles dont le port d'Équipement de Protection Individuelle (EPI) assurent une **protection individuelle** de l'expérimentateur.

Dans la grande majorité des cas, il existe une relation linéaire entre la classe de risque de l'agent biologique et le niveau de confinement dans lequel il doit être manipulé. Toutefois, cette relation n'est pas systématique. En effet, ce n'est pas la classe de risque de l'agent biologique qui doit être prise en compte, mais la classe de risque présentée par l'expérimentation. Les avis de classement émis par la Commission de Génie Génétique (CGG) illustrent fréquemment ce principe

Groupe ou Classe de risque	Niveau de Sécurité Biologique (L)	Ancienne appellation
1	L1	P1
2	L2	P2
3	L3	P3
4	L4	P4

Tableau 2 : Relation entre groupes de risque et niveaux de sécurité biologique

LE LABORATOIRE DE CONFINEMENT

Les exigences réglementaires

Parmi les textes réglementaires qui régissent la conception et le fonctionnement des laboratoires de confinement, deux retiennent plus particulièrement l'attention car ils les concernent plus ou moins directement :

- L'arrêté du 13 août 1996 **fixant les mesures techniques de prévention, notamment de confinement à mettre en œuvre dans les industries et les laboratoires de recherche et d'enseignement où les travailleurs sont susceptibles d'être exposés à des agents biologiques,**
- Le chapitre "Aération et Assainissement des locaux de travail" du Code du Travail et plus particulièrement les Articles R- 232-5 et suivants.

L'arrêté du 13 août 1996, décrit entre autres les caractéristiques techniques de conception, d'équipement matériel et d'utilisation des ces niveaux de confinement. Cet arrêté, qui décrit certaines applications pratiques des obligations faites par le **décret du 4 mai 1994 sur la protection des travailleurs contre l'exposition à des risques d'origine biologique**, ne s'applique pas aux laboratoires d'analyse médicale de ville ou hospitaliers. Ce type d'activité devant bénéficier d'un arrêté spécifique non encore publié à ce jour.

Le chapitre « Aération et Assainissement des locaux de travail » envisage plus spécifiquement les caractéristiques de ventilation de ces locaux. Ce texte fixe les objectifs à atteindre et les principes à respecter. Il ne décrit en aucune manière les solutions techniques à préconiser. Le choix de ces dernières est de la seule responsabilité de l'employeur.

La majorité des agents biologiques manipulés dans les laboratoires appartiennent au groupe de risque 2 et sont manipulés dans des laboratoires L2. La conception et l'aménagement de ces seuls laboratoires L2 seront envisagés dans la suite de ce texte.

Analyse critique de l'arrêté du 13 août 1996

Cet arrêté apporte des avancées importantes pour la mise en place d'une prévention efficace des risques professionnels en imposant, entre autre chose, l'emploi exclusif de Postes de Sécurité Microbiologique (PSM) à partir du niveau de confinement L2. Sa rédaction est

cependant source de confusions qui peuvent entraîner des réalisations immobilières en contradiction avec le Code du Travail. La raison en revient principalement à un tableau récapitulatif des principales exigences pratiques pour chaque niveau de confinement. Ce tableau, en laissant croire qu'il suffit d'équiper un laboratoire ventilé naturellement d'un Poste de Sécurité Microbiologique pour disposer d'un laboratoire L2, est en contradiction avec les exigences des articles R 232-5 et suivants du Code du Travail. Le raisonnement développé ci-dessous montre qu'il n'en est rien.

L' Art. R. 232-5-1 définit deux termes importants :

« - Pour l'application de la présente sous-section, les termes mentionnés ci-dessous ont les significations suivantes :

- **Air neuf** : air pris à l'air libre hors des sources de pollution....
- **Locaux à pollution spécifique** : locaux dans lesquels des substances dangereuses ou gênantes sont émises sous forme de gaz, vapeurs, aérosols solides ou liquides autres que celles qui sont liées à la seule présence humaine, **locaux pouvant contenir des sources de micro-organismes potentiellement pathogènes** et locaux sanitaires.

Cet article concerne donc les laboratoires L2. Un micro-organisme pathogène est un polluant spécifique de l'air et doit être manipulé dans un local à pollution spécifique.

L'Art. R. 232-5-6 .spécifie que « Pour chaque local à pollution spécifique, la ventilation doit être réalisée et son débit déterminé en fonction de la nature et de la quantité des polluants ainsi que, le cas échéant, de la quantité de chaleur à évacuer, sans que le débit minimal d'air neuf puisse être inférieur aux valeurs fixées à l'article R. 232-5-3 ».

Désignation des locaux	Débit minimal d'air neuf par occupant (en m3/heure)
Bureaux, locaux sans travail physique	25
Locaux de restauration, locaux de vente, locaux de réunion	30
Ateliers et locaux avec travail physique léger	45
Autres ateliers et locaux	60

Tableau 3 : Tableau des taux de renouvellement d'air présent dans l'Article R 232-5-3

La ventilation d'un local à pollution spécifique L2, en considérant que l'on n'y effectue que des activités physiques légères, ne peut proposer un renouvellement d'air inférieur à 45m3/heure et par personne comme l'indique le tableau contenu dans l'Art. R. 232-5-3.

Pour obtenir un tel renouvellement de 45m3/h/personne, **la ventilation d'un laboratoire L2 est nécessairement mécanique**. Une difficulté de prise en compte de ce tableau vient du fait qu'il se trouve dans un chapitre sur les locaux à pollution non spécifique.

L'air soufflé dans la pièce doit être évacué. L'article R 232-5-7 stipule que « ...Toutefois, s'il n'est techniquement pas possible de capter à leur source la totalité des polluants, les polluants résiduels doivent être évacués par la ventilation générale du local... » et si l'on souhaite recycler cet air l'article R. 532-5-4 précise que «.....L'air pollué d'un local à pollution spécifique ne doit pas être envoyé après recyclage dans un local à pollution non

spécifique... » Si l'on veut recycler l'air rejeté d'un local à pollution spécifique il faut respecter les prescriptions de l'article R. 232-5-8 « L'air provenant d'un local à pollution spécifique ne peut être recyclé que s'il est efficacement épuré. Il ne peut être envoyé après recyclage dans d'autres locaux que si la pollution de tous les locaux concernés est de même nature.... ».

En d'autres termes et pour respecter les seules obligations du code du travail, **un L2 doit être ventilé mécaniquement, son air rejeté à l'extérieur par un conduit spécifique et filtré.** Cet air ne peut être recyclé qu'après filtration qu'à condition de servir à la ventilation d'un local de pollution identique à savoir, ici, un autre L2. Cette situation n'est rencontrée que très exceptionnellement.

Pour ce qui concerne la nature des pressions d'air régnant dans le local à pollution spécifique par rapport à l'extérieur, l'article R. 232-5 qui sert de préambule au chapitre « aération et assainissement des locaux de travail » précise que « Dans les locaux fermés où le personnel est appelé à séjourner, l'air doit être renouvelé de façon à maintenir un état de pureté de l'atmosphère propre à préserver la santé des travailleurs. Les installations de captage et de ventilation doivent être réalisées de telle sorte que les concentrations dans l'atmosphère ne soient dangereuses en aucun point pour la santé et la sécurité des travailleurs et qu'elles restent inférieures aux valeurs limites fixées à l'article R. 232-5-5. Par ailleurs le décret du 4 mai 1994 sur « la protection des travailleurs contre l'exposition au risque biologique » contenu également dans le code du travail précise que « l'exposition des travailleurs à l'agent biologique pathogène doit être évitée ou réduite par la mise en œuvre de mesures comme la limitation du nombre de travailleurs exposés, la réduction ou si possible la suppression des risques de dissémination des agents biologiques pathogènes, ».

Le captage à la source des polluants dans un laboratoire L2 est assuré par Les Postes de Sécurité Microbiologique de Type II. Leur définition, dans la norme EN NF 12469 qui les concerne, précise qu'ils **n'empêchent pas** la l'exposition aux aérosols infectieux mais **minimisent** cette exposition. De ce fait, **la seule solution technique fiable pour éviter tout transfert d'aérosols infectieux générés dans le laboratoire L2 aux autres pièces est de mettre le laboratoire L2 en dépression.**

Le strict respect des obligations et des principes fixés par le Code du Travail amène donc à considérer qu'un laboratoire L2 est ventilé mécaniquement et placé en dépression relative par rapport aux locaux avec une extraction de l'air filtré directement en terrasse.

L'adjonction d'un sas traité en surpression relative et alimenté par de l'air qui peut être filtré, non prévue par le code du travail, est destinée à prendre en considération les obligations de maintien de la qualité expérimentale et renforce encore les mesures qui s'opposent à la dissémination de polluants microbiologiques.

Pièce de culture cellulaire et laboratoire de confinement L2

Il arrive fréquemment que les utilisateurs, exprimant leur besoin en terme de techniques expérimentales, emploient l'expression « pièce de culture cellulaire » pour désigner un laboratoire L2. Si des cultures cellulaires peuvent être réalisées dans les deux types de pièces, la conception et la destination de l'une et de l'autre diffèrent totalement et surtout, les choix de ventilation, comme le montre le tableau ci-dessous, sont opposés.

Pièce de culture Cellulaire			Laboratoire L2		
<i>Pression de l'air</i>	<i>Objectif</i>	<i>Agents biologiques manipulés</i>	<i>Pression de l'air</i>	<i>Objectif</i>	<i>Agents biologiques manipulés</i>
Positive	Protection de la manipulation	Non pathogènes pour l'homme	Négative	Protection de l'extérieur. De la manipulation si sas en pression positive	Pathogènes pour l'homme du groupe 2

Tableau 4 : Principales différences entre pièce de culture cellulaire et laboratoire de confinement L2

L'évolution des activités expérimentales à moyen terme est toujours délicate. Les applications très limitées d'une salle de culture cellulaire font qu'il est toujours préférable, dans la mesure du possible, de s'orienter vers la réalisation d'un laboratoire L2 plutôt que d'une pièce de culture cellulaire même lorsque les expérimentations envisagées à court terme n'ont pas recours à des agents biologiques pathogènes pour l'homme.

VENTILATION DU LABORATOIRE L2

Le laboratoire et le sas d'accès sont placés respectivement en dépression et en surpression relatives l'un par rapport à l'autre et par rapport aux locaux adjacents. La relativité des pressions est le caractère important. Cela laisse aux concepteurs techniques une assez grande latitude vis à vis des possibilités techniques auxquelles recourir pour respecter cette règle.

Quelques points importants sont à prendre particulièrement en compte.

La filtration de l'air

La filtration de l'air en extraction est obligatoire pour respecter les prescriptions du Code du Travail. Les filtres HEPA s'imposent. L'implantation de ces filtres dans les pièces mêmes est la meilleure solution technique.

- ◆ Pour le système d'extraction, les canalisations d'air et l'extracteur installé en terrasse sont ainsi protégés de toute contamination par des agents biologiques pathogènes
- ◆ Pour le système de soufflage de l'air, si celui-ci est également équipé d'un filtre HEPA, l'air pulsé dans la pièce est propre et l'encrassement des filtres est aisément vérifiable à l'œil.

La possibilité de désinfection du laboratoire L2 par formolation

Toute intervention d'entreprise extérieure dans le laboratoire L2 ou sur du matériel qui y est présent, que ce soit pour du contrôle, de la maintenance ou une intervention technique, nécessite une désinfection préalable à l'intervention. Pour les gros matériels, il est souvent plus aisé de procéder à la désinfection globale du laboratoire.

Pour répondre à ces exigences la formolation est encore le procédé le plus utilisé. Pour que cette étape technique se déroule sans incidents, la conception et la réalisation de la ventilation du laboratoire L2 doivent permettre qu'elle soit réalisée aisément et sans contact direct des personnes avec le formol ni sa diffusion dans les locaux adjacents.

La solution la plus efficace est d'équiper les gaines de ventilation de clapets de formolation actionnables par l'extérieur du laboratoire L2.

L'implantation des bouches de soufflage et d'extraction de l'air

L'implantation des bouches de soufflage et d'extraction de l'air revêt importance cruciale en regard de l'efficacité de la ventilation du laboratoire L2 vis à vis du captage des polluants. Trois schémas d'implantation sont principalement rencontrés.

▶ Les bouches de soufflage et d'extraction sont implantées au plafond. Cette solution est encore fréquemment rencontrée. Elle est la plus aisée à mettre en œuvre et moins coûteuse que les deux autres. Elle est aussi la plus inefficace. Le volume de la pièce effectivement balayé par l'air neuf est faible et principalement localisé en hauteur.

▶ L'implantation des bouches de soufflage au plafond et d'extraction près du sol est une solution technique plus efficace que la précédente. Le volume de la pièce effectivement balayé est plus grand. Cette technique présente cependant deux inconvénients majeurs :

- ◆ la présence des bouches d'extraction près du sol les expose au risque toujours important d'être obstruée par de obstacles ajoutés par les manipulateurs (cartons, placards sur roulettes etc..),
- ◆ l'implantation de bouches de soufflage au plafond risque d'influer sur le bon fonctionnement des PSM si ceux –ci sont disposés à la verticale de ces bouches.

►► L'implantation des bouches de soufflage près du sol et d'extraction au plafond est une solution technique tout aussi efficace que la précédente. Si le risque d'obstruction des bouches de soufflage ne peut être éliminé, au moins la disposition au plafond des bouches d'extraction ne risque pas de provoquer un mauvais fonctionnement des PSM s'ils sont disposés juste à leur verticale.

La position relative des bouches d'extraction et des PSM

Une étude du NIH, par simulation informatique et publiée sur son site Web, montre l'importance des dispositions relatives des bouches d'extraction et d'une sorbonne.



Figure 1 : Influence de l'implantation des bouches de soufflage sur le fonctionnement d'une sorbonne (d'après étude NIH)

Bien que la simulation n'ait pas été, à ma connaissance, réalisée à ce jour. Il est raisonnable de penser qu'elle aboutirait à des résultats proches de celle effectuée par le NIH.

MATÉRIELS ET EQUIPEMENTS DE PROTECTION INDIVIDUELLE (EPI)

Les équipements matériels et les EPI d'un laboratoire L2 jouent le rôle principal dans la protection des manipulateurs.

Autoclave

Les textes sur les déchets ne le rendent pas obligatoire, puisque ceux-ci peuvent être inactivés chimiquement ou par autoclavage. Toutefois, l'arrêté du 13 août 1996 le demande au moins dans le bâtiment. La présence d'un autoclave **fonctionnant selon le principe de la chaleur humide** s'avère très utile, en particulier pour le devenir ultérieur des déchets liquides.

Les Postes de Sécurité Microbiologique (PSM)

La présence de PSM est rendue obligatoire dans le laboratoire L2 par l'arrêté du 13 août 1996. Les PSM de type II sont les plus fréquemment installés. Ces matériels font l'objet d'une certification NF qui garantit leur conformité aux exigences de la norme EN NF 12469 qui les définit.

Les rotors ou nacelles hermétiques pour centrifugeuses

Ces équipements sont recommandés dès le niveau de confinement L2. Ils permettent d'éviter toute exposition à des aérosols infectieux en cas de bris de tube lors de la centrifugation. Depuis le début de 2002, certains fournisseurs proposent leurs centrifugeuses équipées en standard de cet équipement.

Les gants

Le port de gants en latex est nécessaire pour les phases techniques qui peuvent exposer à des contaminations cutanées. Une étude américaine, publiée en 1989 dans Nature, a démontré l'efficacité de ce polymère en le comparant à d'autres. Il existe sur le marché des gants latex certifiés NF. Ils sont répartis dans les catégories d'examens et de chirurgie.

PRINCIPALES REGLES D'UTILISATION D'UN LABORATOIRE DE CONFINEMENT L2

Réaliser un laboratoire de confinement L2 conforme aux exigences réglementaires, l'équiper correctement et le remettre entre les mains de manipulateurs confirmés ne suffit pas pour assurer une protection efficace et effective des personnels. L'utilisation de ce type de laboratoire nécessite la connaissance d'un minimum de règles spécifiques.

- ◆ Un laboratoire de confinement L2 est un outil et non le lieu de travail quotidien, à de rares exceptions près, d'une équipe
- ◆ Seule la partie de l'expérimentation qui nécessite ce niveau de confinement y est réalisée. La suite de l'expérimentation est menée en dehors de cette structure
- ◆ L'entrée, la sortie et le travail dans un laboratoire de confinement doivent faire l'objet de rédaction de procédures techniques spécifiques
- ◆ Seules les personnes autorisées et formées spécifiquement accèdent au laboratoire de confinement
- ◆ Une totale transparence sur les agents biologiques manipulés dans le laboratoire de confinement doit exister entre les différents utilisateurs
- ◆ La totalité des agents biologiques manipulés et/ou stockés dans le laboratoire de confinement doit être répertoriée et cette liste régulièrement mise à jour

CONTRÔLE ET MAINTENANCE DES LOCAUX DE CONFINEMENT L2 ET DES MATÉRIELS

Le Chapitre « Aération et assainissement des locaux de travail » du Code du Travail fait obligation à l'employeur de s'assurer du maintien en bon état de fonctionnement des installations de ventilation des locaux de travail et des équipements de captage des polluants à la source. Dans le cas des laboratoires de confinement L2, les installations ventilations du local et les PSM et les centrifugeuses, surtout les ultracentrifugeuses, sont principalement concernés.

Quelques règles simples peuvent être préconisées :

- ◆ séparer les opérations de contrôle, qui ont pour but de s'assurer que les performances des matériels sont toujours maximales des opérations de maintenance ou de réparation qui, elles visent à rendre au matériel ses performances d'origine.
- ◆ confier les contrôles à des entreprises spécialisées et indépendantes des constructeurs ou installateurs
- ◆ confier les opérations de maintenance au constructeur ou à l'installateur du matériel

BIBLIOGRAPHIE

Arrêté du 13 août 1996 fixant les mesures techniques de prévention, notamment de confinement à mettre en œuvre dans les industries et les laboratoires de recherche et d'enseignement où les travailleurs sont susceptibles d'être exposés à des agents biologiques.

Articles R- 232-5 et suivants du chapitre "Aération et Assainissement des locaux de travail" du Code du Travail

SIMONS. J; SOTTY. P. "Prévention en laboratoire de recherche : Risques Biologiques". 1991 Editions CNRS, INSERM, INRA, Institut Pasteur.

WHYTE. W ; BRESIN. S. "Les salles propres. Maîtriser la contamination – Pourquoi ? – Comment ? ». 1993. PYC éditions.

SIMONS. J.; MERITE. S.; BALL. F.X. "Product certification (NF and GS Marks) and CE marking of microbiological safety cabinets, type II : advantages and possible evolution of these labels and marking". *Mai 2000*. 18^{ème} symposium international de l'IVSS / AISS / ISSA. Achema. Francfort.

SIMONS. J. « Etude critique de la nouvelle norme EN 12469 sur les PSM ». Revue Salle propre et maîtrise de la contamination. *Juillet 2001*. N°14 ; pp. 29-31.

GUIDE POUR LA CONCEPTION D'UN LABORATOIRE DE CONFINEMENT L 3

Septembre 2001

1- Introduction

Le niveau de confinement, en matière de sécurité biologique pour l'homme et l'environnement, est obtenu par la mise en œuvre conjointe d'une installation et d'équipements adéquats ainsi que de bonnes pratiques de travail correspondant au niveau de sécurité recherché. Pour chaque niveau de confinement, des prescriptions minimales sont fixées par la réglementation et la normalisation, en particulier l'arrêté du 13 août 1996 fixant les mesures techniques de prévention, notamment de confinement, à mettre en œuvre dans les industries et les laboratoires de recherche et d'enseignement où les travailleurs sont susceptibles d'être exposés à des agents biologiques pathogènes. Ces prescriptions sont également développées, quant à l'utilisation confinée d'OGM, dans le *guide de la Commission de génie génétique* intitulé "Principes de classement et guides officiels de la commission de génie génétique". Si la conception et la réalisation d'installations de niveaux de confinement L1 et L2 ne présentent pas trop de difficultés, il n'en va pas de même pour une installation de niveau L3, beaucoup plus complexe. L'obligation d'un double confinement, primaire et secondaire, ce dernier étant destiné à empêcher la contamination de l'environnement en cas de rupture accidentelle du confinement primaire constitué par la première barrière physique entre la source de danger et l'opérateur, rend la réalisation nettement plus difficile.

C'est pourquoi il est apparu utile de rassembler dans ce guide les points essentiels à prendre en considération au regard de la sécurité biologique, lors de la conception d'un laboratoire de niveau de confinement L3. Ce document n'est pas un cahier des charges mais a pour but d'aider le maître d'ouvrage dans l'élaboration de celui-ci. Ce document a encore moins pour objet de décrire des pratiques de travail ou des règles de fonctionnement bien détaillées par ailleurs.

Ce guide s'appuie sur les réglementations et les normes en vigueur en matière de sécurité biologique. De plus, il importe de bien veiller à la conformité des projets de construction de laboratoires L3 vis-à-vis de toutes les autres réglementations en matière de droit du travail, de sécurité, en particulier sécurité incendie, sécurité électrique, sécurité radiologique, sécurité chimique, ainsi qu'en matière de construction. Un projet de laboratoire L3 peut aussi être compliqué par l'obligation, pour certaines activités ou certains types de produits, de respecter des normes d'assurance-qualité ou de mettre en œuvre des bonnes pratiques de laboratoire ou de fabrication. Il conviendra alors de choisir les solutions techniques capables de répondre à ces exigences supplémentaires.

La construction d'un laboratoire L3 représentant un investissement important, il est recommandé d'intégrer au projet, dès l'origine, les éléments d'adaptabilité de l'installation aux évolutions possibles de l'activité du laboratoire.

Enfin, compte tenu du niveau technique de ce type d'installation, sa réalisation ne peut être confiée qu'à un service ou un bureau d'étude particulièrement qualifié.

2- Localisation et dimensions

- Séparer le laboratoire des zones ouvertes à la circulation normale dans le bâtiment.
- Eviter la proximité immédiate avec les locaux à usage collectif ou administratif (par exemple la cafétéria, la bibliothèque ou les bureaux des services administratifs).
- Déterminer les dimensions de l'installation en fonction de la nature des activités et du nombre de personnes intervenant dans les locaux ainsi que de l'importance des équipements et des contraintes de nettoyage.
 - cf. notamment l'annexe A de la norme **NF EN 12128** sur les lignes directrices relatives aux besoins en espace libre et aux dimensions.
- Tenir compte des nécessités d'acheminement de charges manuelles ou roulantes ou des déplacements d'appareils par les différents accès; prêter attention aux obstacles, aux différences de niveaux, aux dimensions des cheminements, des portes et des sas matériels.
- Tenir compte des liaisons ou de la proximité avec certaines activités annexes : laverie, stockages, le cas échéant travaux en amont ou en aval de l'activité du laboratoire L3.
- Prendre en considération, si nécessaire, les flux de personnel, de matériels, de matières premières et de produits, notamment lorsque des bonnes pratiques de laboratoire ou de fabrication doivent être appliquées.
- Tenir compte des opérations de maintenance des installations et des équipements.
- Tenir compte de la nécessité de décontaminer les appareils avant leur réparation, leur contrôle ou leur transport à l'extérieur du laboratoire.
- Tenir compte, dans la conception des clôtures, des risques d'intrusion ou de malveillance.
-

3- Conception générale de la construction

- L'accès contrôlé des personnes autorisées se fait, dans le laboratoire, par au moins un sas à double porte conçu pour éviter toute dissémination d'organismes dangereux, du laboratoire vers l'extérieur. Ce confinement est réalisé, d'une part en asservissant les deux portes pour qu'elles ne puissent pas s'ouvrir simultanément, d'autre part en réalisant une barrière de pression entre le laboratoire et la zone contiguë. Le sas doit comporter un double vestiaire permettant de séparer vêtements de ville et vêtements ordinaires de laboratoire, de la tenue spécifique au laboratoire L3 ; une division du sas en deux zones constitue une version plus élaborée dans laquelle la zone adjacente au laboratoire peut accueillir le vestiaire pour tenues de laboratoire; d'autres variantes sont possibles avec la mise en place d'un sas d'entrée, simple ou double et d'un sas de sortie simple ou double. Différentes combinaisons de pressions sont possibles à l'intérieur du sas (cf. § 6) selon que l'on considère un seul sas ou un double sas ou que l'objectif recherché est uniquement la sécurité biologique ou bien à la fois la sécurité biologique pour l'homme et l'environnement et la qualité du produit et des opérations conduites dans le laboratoire.
- L'accès au sas doit pouvoir être verrouillé; (voir contrôle d'accès par badge...)
- La présence d'un risque biologique doit être signalée de façon claire et permanente, en apposant sur la porte d'accès à la zone L3 le pictogramme de " danger biologique ", conforme à la norme **ISO 7000** quant à sa présentation graphique et à la norme **ISO 3864** quant à la forme géométrique et aux couleurs ; voir également **l'arrêté du 4 novembre 1993** relatif à la signalisation de sécurité.
- Le niveau de confinement L3 doit être aussi indiqué sur la porte d'accès à cette zone.
- Un sas matériel de dimensions appropriées permettant la décontamination par fumigation ou pulvérisation d'agent désinfectant doit être envisagée, en cas de sortie de matériels non

autoclavables; Un tel sas comporte également deux portes asservies pour ne pas s'ouvrir simultanément. Il est recommandé de rendre le système de fumigation du sas, indépendant du système général de fumigation du laboratoire, par exemple par la mise en place de volets étanches sur les entrées et les sorties d'air.

- Le laboratoire lui-même est conçu pour éviter toute dissémination d'organismes dangereux vers l'extérieur. Dans le cas général, ce confinement secondaire est obtenu, d'une part en plaçant le local en pression négative par rapport à la zone attenante et aux sas, d'autre part en assurant une étanchéité correcte des sols, des cloisons, des plafonds, des jonctions entre éléments de construction, des joints de portes et fenêtres ainsi que des passages de canalisations de fluides dans les parois. Dans certains cas particuliers, par exemple lorsqu'il est nécessaire pour la qualité de l'opération ou du produit de travailler en atmosphère contrôlée, à faible contamination particulière, des moyens alternatifs de confinement évalués, donnant des conditions de sécurité biologique équivalentes, peuvent être mis en œuvre sous réserve de l'accord de la Commission de génie génétique.
- L'ensemble des locaux doit pouvoir être fermé hermétiquement pour permettre une désinfection par fumigation. Les fenêtres doivent être fermées, scellées et équipées de joints étanches.
- L'installation doit pouvoir se prêter aisément à des traitements contre les rongeurs et les insectes.
- La disposition des équipements doit faciliter le nettoyage et éviter les endroits inaccessibles à celui-ci.
- Un vitrage d'observation, ou un système équivalent, permettant de voir les occupants est nécessaire

4- Caractéristiques des matériaux

- Matériaux non relarguant.
- Résistance des structures à la pression, compte tenu des pressions différentielles mises en œuvre.
- Étanchéité et résistance des structures du laboratoire et des systèmes associés de ventilation extractive, aux agents de désinfection par fumigation et aux agents de neutralisation des désinfectants.
- Résistance à l'eau des sols, des murs, des cloisons et des plafonds.
- Conception des bas de murs, des cloisons et des seuils de porte pour éviter la diffusion à l'extérieur de liquides accidentellement répandus (éviter les plinthes); ce dispositif correspond à des barrières de rétention.
- Imperméabilité à l'eau des paillasse (éviter les joints) et résistance de celles-ci aux acides, alcalis, solvants organiques et désinfectants ainsi qu'à une chaleur modérée.
- Étanchéité des sols à l'eau (si possible, éviter les joints).
- Résistance aux chocs des portes, des fenêtres et des oculi .
- Étanchéité, résistance mécanique et résistance au feu (M0 recommandé: voir préconisations des assurances) des gaines électriques.
- Résistance des canalisations de fluides (corrosion, température).
- Résistance des bacs de décontamination et des canalisations associées aux lavabos et douches, en fonction des traitements et des désinfectants appliqués.
- Degré coupe-feu des cloisonnements, des portes, des fenêtres et des oculi (degré coupe-feu et de résistance au feu à préciser selon les cas).

5- Equipements

- Un lavabo permettant le lavage et la désinfection des mains est localisé près de la porte de sortie du laboratoire et, éventuellement, dans le sas près de la porte donnant sur le laboratoire; ce lavabo est équipé de robinets à commande non manuelle (commande au bras par exemple); un bac dédié à ce lavabo est prévu pour en recueillir les effluents et les décontaminer sur place avant rejet; un killing-tank général pour le laboratoire peut être également une solution.
- Un dispositif pour la désinfection des mains doit être disponible.
- Une douche de sécurité pour les risques non biologiques associés, en particulier chimiques, est placée à proximité du sas. Les effluents en sont recueillis dans un bac de décontamination dédié; des robinets à commande non manuelle sont recommandés.
- Si une douche de décontamination biologique est jugée nécessaire, elle est placée dans le sas près de la porte donnant sur le laboratoire; les effluents en sont recueillis dans un bac de décontamination dédié; les robinets sont à commande non manuelle.
- Un dispositif de rinçage oculaire en cas d'urgence doit être prévu.
- D'autres ensembles " arrivée d'eau-siphon-évier ", que ceux mentionnés ci-dessus, sont déconseillés dans ce type de laboratoire. En cas de nécessité, prévoir à chaque fois un bac de " récupération-décontamination " dédié, ainsi que des robinets à commande non manuelle.
- Les canalisations de vide sont protégées par des pièges contenant un désinfectant validé ou, de préférence, des filtres HEPA; une pompe à vide dédiée au laboratoire est recommandée.
- Des moyens de communication avec l'extérieur: téléphone, télécopie, micro-ordinateur, doivent être prévus, afin d'éviter toute sortie de documents ou cahiers d'essais.
- En fonction de l'évaluation des risques ou de contraintes de qualité, prévoir, le cas échéant, un approvisionnement en énergie électrique de secours ; en cas d'impossibilité de raccordement à un réseau secouru, un onduleur peut constituer une solution alternative.
- Des postes de sécurité microbiologique (PSM) de type I, II ou III, des protections individuelles ou des équipements de confinement adaptés sont utilisés chaque fois que des opérations ou des techniques susceptibles de produire des aérosols ou des projections de liquides contaminés sont mises en œuvre, comme l'ouverture de récipients contenant des micro-organismes lors de transferts de cultures, les centrifugations, les broyages, les agitations, les sonications, la cytométrie en flux, les inoculations intra-nasales chez des animaux et les prélèvements de tissus d'animaux infectés.
- Les PSM de type I, II ou III doivent être conformes à la norme **NF X 44-201** dans laquelle sont notamment données les définitions de ces différents types (on peut également consulter la norme européenne **NF EN 12469** qui devrait remplacer la norme NF X 44-201). Les chambres de manipulation de ces enceintes sont en dépression; ces appareils de sécurité biologique sont équipés d'un ou de deux filtres HEPA sur l'évacuation d'air contaminé . Le Laboratoire National d'Essais (LNE) fournit une liste des marques et références commerciales de postes de sécurité microbiologique de type II admis au label NF.
- Les PSM de type I n'assurent que la protection du manipulateur et de l'environnement. Les PSM de type II, les plus utilisés, assurent à la fois la protection du manipulateur et de l'environnement ainsi que de la manipulation, grâce à un flux d'air stérile dirigé de haut en bas vers le plan de travail et à une veine de garde évitant la sortie de l'air contaminé par la façade partiellement ouverte de l'appareil. Pour éviter toute perturbation excessive du

flux d'air et tout risque de fuite d'air contaminé au travers de la veine de garde, il est impératif d'appliquer des consignes strictes de sécurité au cours des travaux menés sous ce type de PSM. Il faut, notamment, éviter de trop encombrer la chambre de manipulation et d'y faire des mouvements brusques et désordonnés. Toujours dans le but d'éviter de perturber le flux laminaire et de diminuer la durée de vie des filtres, il est recommandé de ne pas utiliser de flamme sous ce PSM.

- L'air filtré sur HEPA provenant des PSM est rejeté à l'extérieur par le système d'évacuation d'air du laboratoire. Ce rejet ne doit pas perturber le système de ventilation du laboratoire. En fonction de l'évaluation des risques, mais de façon exceptionnelle, l'air filtré sur HEPA, extrait des PSM de type I ou II, peut être rejeté dans le laboratoire, si ces PSM sont contrôlés au moins une fois par an par un organisme extérieur compétent, déclarés conformes et si la sortie d'air des PSM est proche de l'extraction d'air du laboratoire.
- Un PSM ne doit pas être placé sous une bouche de soufflage d'air.
- L'air provenant des PSM de type III (isolateurs) doit toujours être rejeté directement à l'extérieur du laboratoire, sans recyclage.
- Afin d'éviter une rupture complète de confinement en cas de panne électrique, les PSM assurant le confinement primaire lors de certaines opérations seront alimentés prioritairement en courant secouru.
- Toute panne sur les PSM conduisant à une rupture de confinement primaire devra être signalée par une alarme visuelle et sonore afin de permettre aux opérateurs d'engager la procédure définie de mise en sécurité des manipulations en cours et, le cas échéant, d'évacuation du laboratoire pendant le maintien en fonctionnement secouru des PSM.
- Il est recommandé de veiller à l'aspect sécurité biologique des centrifugeuses, la décontamination de la cuve doit être facile à réaliser et les tubes de centrifugation doivent être incassables et fermés par des couvercles vissés.
- Les étuves et les incubateurs doivent pouvoir être facilement décontaminés.
- Un laboratoire L3 doit comporter un autoclave frontière à double entrée, équipé pour assurer la stérilisation des condensats et interdire l'ouverture simultanée des deux portes ; parmi les normes correspondantes, consulter la norme **NF EN 12347** et les normes associées.
- Dans certains cas exceptionnels (par exemple plusieurs laboratoires L3 contigus) et avec l'avis favorable de la CGG, l'autoclave frontière peut être remplacé par un autoclave situé à proximité immédiate du laboratoire, avec des procédures appropriées, évaluées et contrôlées dans leur déroulement, permettant le transfert des déchets et matériels contaminés vers cet autoclave en assurant la même protection. Cette solution, exceptionnelle, nécessite l'utilisation de conteneurs étanches et résistants, extérieurement décontaminés dans un sas matériel avant transfert rapide à l'autoclave pour stérilisation par une personne autorisée; le conteneur doit être conçu de manière à permettre directement la stérilisation par la vapeur.
- En règle générale, un laboratoire L3 doit comporter un équipement de base dédié et, dans toute la mesure du possible, conforme aux normes existantes, contrôlé régulièrement et peu bruyant.

6 – Ventilation – Extraction - Aéraulique.

- Le système de ventilation doit réaliser une dépression stable dans le laboratoire par rapport aux zones attenantes, créant un flux d'air directionnel de l'entrée du local vers

- l'extraction. L'air extrait est filtré au plus près du local sur filtre HEPA avant rejet à l'extérieur, loin des entrées d'air, sans recyclage dans aucune autre partie du bâtiment.
- Si une ventilation tout air neuf, sans aucun recyclage dans le laboratoire, n'apparaît pas nécessaire en fonction de l'analyse des risques et des éventuelles contraintes de qualité, il est possible d'effectuer un reconditionnement et un recyclage partiels dans le laboratoire, de l'air extrait. Dans ce cas, il est recommandé d'extraire cet air à travers deux filtres HEPA contrôlés indépendamment ; le réseau de gaines entre les deux filtres devra alors être étanche et le plus court possible.
 - Les filtres HEPA d'extraction d'air sont implantés en barrière physique soit, de préférence, dans des gaines basses soit dans le plafond du laboratoire.
 - Les filtres HEPA doivent être placés de manière à être accessibles aux contrôles et permettre leur décontamination et leur changement en toute sécurité.
 - Dans certains cas, notamment lorsque des exigences de qualité des opérations sont présentes ou sur la base de l'évaluation des risques, le soufflage de l'air à l'entrée peut également être muni d'un filtre HEPA, isolant ainsi complètement le laboratoire vis-à-vis des réseaux aérauliques.
 - Il est recommandé d'utiliser deux systèmes indépendants, l'un pour le soufflage, l'autre pour l'extraction de l'air du laboratoire.
 - Les systèmes de soufflage et d'extraction de l'air sont toutefois asservis afin d'éviter une surpression du laboratoire par rapport aux zones attenantes; ainsi, un arrêt de l'extraction doit induire automatiquement un arrêt du soufflage.
 - L'impact des PSM et des autres appareils, en particulier quant aux débits d'air et au dégagement thermique, doit être pris en compte dans le projet d'installation de ventilation, notamment le calcul de son dimensionnement.
 - Les risques de détérioration des filtres liés à la formation de condensats dans les gaines de ventilation ou d'extraction doivent être évités.
 - Des manomètres placés à l'extérieur du laboratoire doivent permettre une lecture des pressions aérauliques présentes dans les différents compartiments de l'installation.
 - Le contrôle de la pression d'air, de la température et si nécessaire de l'hygrométrie dans les compartiments de l'installation doit être parfaitement défini.
 - Un régime de fonctionnement et de régulation automatique de la pression aéraulique, peut être prévu en option.
 - Divers régimes de pression d'air sont possibles dans les compartiments, selon que l'on considère uniquement l'aspect sécurité biologique ou bien le double objectif sécurité biologique et qualité des opérations. Une configuration fréquente, lorsque seul l'aspect sécurité biologique est considéré, prévoit un premier sas en surpression relative de + 30 Pa par rapport au couloir extérieur, un deuxième sas en dépression de -15 Pa et le laboratoire en dépression de -30 Pa, toujours par rapport au couloir extérieur.
 - La présence d'un seul sas n'est pas à recommander pour un L3, dans la mesure où les vêtements de ville ou les tenues ordinaires de laboratoire ne seraient pas séparés des tenues spécifiques au laboratoire L3 par une barrière de pression. Il est préférable de prévoir un sas " propre " coté couloir et un sas potentiellement contaminé donnant sur le laboratoire .
 - Une alarme sonore et visuelle, capable de détecter tout changement inacceptable de la pression d'air définie, doit être présente.
 - Dans tous les cas de coupure électrique ou de panne d'alimentation en air traité, l'isolement des réseaux aérauliques désactivés doit être assuré par des clapets étanches à fermeture automatique par manque de courant.
 - En cas d'incident sur l'installation principale de ventilation-extraction, le maintien du laboratoire en dépression peut être assuré par un doublement du poste d'extraction.

- En fonction de l'analyse des risques, le ou les postes d'extraction peuvent être alimentés par un réseau secouru en cas de coupure électrique générale ; en cas d'impossibilité de raccordement à un réseau secouru, un onduleur peut constituer une solution alternative. Une procédure de mise en sécurité des opérations en cours et, le cas échéant, d'évacuation du personnel, doit être prévue en cas de panne d'extraction d'air et donc de risque d'altération du confinement secondaire.

7 – Impact des mesures d'intervention d'urgence sur la conception de l'installation.

- Prévoir la possibilité de neutraliser l'asservissement des portes du sas personnel en cas d'évacuation d'urgence.
- Prévoir, si nécessaire, notamment en fonction des dimensions du laboratoire, une issue de secours étanche.
- Prévoir la possibilité d'évacuer d'éventuelles victimes d'accident ou de malaise en position semi-allongée ou allongée. En prévoir les conséquences sur les espaces entre les paillasses et sur les dimensions du ou des sas.
- Prévoir l'accès possible de personnel d'intervention d'urgence avec leur équipement et leur matériel.
- Prévoir des solutions aux problèmes posés par la récupération et le traitement éventuel des eaux répandues suite à l'extinction d'un incendie ; un bac de rétention peut constituer une réponse ; bien examiner avec les personnels de secours les possibilités d'utilisation d'agents d'extinction tels que poudres, mousses, CO₂... .
- Prévoir des extincteurs et leur contrôle périodique.

8 – Qualification de l'installation.

- Un plan directeur de qualification de l'installation et des équipements est établi en vue des opérations de réception et de mise en service.
- Le dossier de qualification pour l'ensemble de l'installation comporte notamment le descriptif documenté, les tests de qualification et le rapport attestant que l'installation et ses équipements sont conformes et opérationnels.

9 – Contrôle et maintien des performances de l'installation.

- Un programme de maintenance et d'entretien périodique propre au fonctionnement des systèmes de ventilation, d'extraction et de filtration, des volets d'isolement en phase de décontamination par fumigation, des alarmes de modification des pressions aérauliques dans les compartiments doit être élaboré; une fréquence semestrielle est recommandée pour ce type de programme.
- Un arrêt complet des activités du laboratoire et sa désinfection peuvent être prévus pendant quelques jours pour permettre des opérations approfondies d'entretien.
- Les conditions et la fréquence de changement des filtres ainsi que leur décontamination complète.

DOCUMENT 3

COFRAC - Section
Laboratoires Pr 116 /rév.02
Septembre 2003

Commission Technique
d'Accréditation
« Agro-Alimentaire »

PROGRAMME N° 116

"ESSAIS ET ANALYSES EN BACTERIOLOGIE ANIMALE"

I - DOMAINE D'APPLICATION

Essais et analyses bactériologiques destinés à l'isolement, à l'identification et à la détermination de la sensibilité aux anti-infectieux des agents d'infections bactériennes animales. Des accréditations peuvent être délivrées pour tout ou partie des analyses ou essais du présent programme.

Les programmes d'accréditation reflètent l'état d'avancement des connaissances au jour de leur approbation. Ils sont destinés à être régulièrement complétés ou modifiés pour prendre en compte l'évolution des techniques.

Les accréditations peuvent porter le cas échéant sur des analyses ou essais réalisés en appliquant des méthodes autres que les méthodes de référence, mais dont les principes techniques peuvent être considérés comme de même nature.

Toutefois le recours à cette possibilité reste assujéti aux exigences suivantes :

- les laboratoires doivent établir leurs méthodes d'analyses internes.
- les laboratoires doivent pouvoir justifier de la validité de ces méthodes ou du matériel par l'un au moins des moyens suivants :
 - . comparaison périodique des résultats obtenus avec ceux résultant de la mise en oeuvre d'une méthode de référence reconnue.
 - . participation à des campagnes d'essais interlaboratoires. Les résultats obtenus par les laboratoires en utilisant leur méthode interne doivent être satisfaisants.
 - . utilisation de matériaux ou produits de référence certifiés et/ou, de composition ou de caractéristiques connues, lorsqu'ils sont disponibles.
 - . validation de ces méthodes par une commission de validation d'un organisme reconnu par la Commission Sectorielle "Santé, Protection et Qualité Animales".
- un rapport est établi, explicitant les dispositions prises pour démontrer la validité des méthodes, en justifiant notamment leur domaine d'application.

L'utilisation de méthodes internes doit obligatoirement être signalée dans le rapport d'essai ou d'analyse.

Essais et analyses "dérivés"

Un laboratoire peut demander une accréditation pour une analyse ou un essai défini par un document de référence (normes, cahier des charges particulier,) ne figurant pas explicitement dans ce programme, à condition que :

- l'exécution de l'analyse ou de l'essai considéré requière les mêmes compétences et les mêmes types d'équipement que ceux nécessaires à la réalisation de l'un des essais ou analyses définis par un des documents de référence qui figurent dans le programme,
- le laboratoire ait demandé à être ou soit accrédité par le COFRAC pour au moins un essai ou une analyse explicitement prévu dans le programme.

Les analyses ou essais, objets du présent programme, sont énumérées ci-après :

CODE	NATURE DE L'ANALYSE	TEXTES DE REFERENCE
BA.10	Détermination <i>in vitro</i> de la sensibilité des bactéries aux antiinfectieux par dilution	Texte français de référence (CNEVA-LPB et LVD 36 et ACSEDIATE)
BA.20	Détermination <i>in vitro</i> de la sensibilité des bactéries aux antiinfectieux par diffusion	Texte français de référence (CNEVA-LPB et LVD 36 et ACSEDIATE)
BA.30	Isolement et identification de <i>Brucella spp</i> autres que <i>B. ovis</i> et <i>B. canis</i>	GARIN-BASTUJI B. et TRAP D. Brucelloses animales, Techniques de labo., 1990, CNEVA Edit.
BA.40	Isolement et identification de <i>Brucella ovis</i>	Texte français de référence (ACSEDIATE)
BA.50	Isolement et identification des principales salmonelles chez les mammifères	Texte français de référence (CNEVA-LPB)
BA.60	Isolement et identification des principales salmonelles chez les oiseaux	Texte français de référence (LDA 22)
BA.70	Isolement et identification des salmonelles en élevage avicole (<i>S. Enteritidis</i> , <i>S. Typhimurium</i>)	Texte français de référence (LDA 22)
BA.80	Isolement et identification de <i>Mycobacterium paratuberculosis</i>	Texte français de référence (CNEVA-LCRV)
BA.90	Isolement et identification de <i>Listeria spp</i>	Texte français de référence LVD 37
BA.100	Isolement et identification d' <i>Escherichia coli</i> K 99	(CNEVA-LPB et LVD 36) Texte français de référence
BA.110	Isolement de <i>Mycoplasma spp.</i> chez les ruminants	Texte français de référence (CNEVA-LPB et LVD 36)
BA.120	Isolement et identification de <i>Campylobacte spp.</i> chez les bovins	Texte français de référence (ACSEDIATE)
BA.130	Isolement et identification de <i>Chlamydia psittaci</i>	Texte français de référence (CNEVA-LCRV)
BA.140	Isolement et identification des principaux germes de mammites des ruminants	Texte français de référence (CNEVA-LPB et LVD 36)
BA.150	Isolement et identification de <i>Mycoplasma agalactiae</i>	Texte français de référence (CNEVA-LPB et LVD 36)
BA.160	Isolement et identification des bactéries du groupe HAP(<i>Haemophilus</i> , <i>Actinobacillus</i> , <i>Pasteurella</i>) chez le porc	Texte français de référence (CNEVA-LCRAP et LDA 22)

CODE	NATURE DE L'ANALYSE	TEXTES DE REFERENCE
BA.170	Recherche de l'exotoxine protéique de <i>Pasteurella multocida</i> par ELISA	Texte français de référence (CNEVA-LCRAP et LDA 22)
BA.180	Isolement et identification d' <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	Texte français de référence (CNEVA-LCRAP et LDA 22)
BA. 190	Sérotypie d' <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	Texte français de référence (CNEVA-LCRAP et LDA 22)
BA.200	Isolement et identification de <i>Bordetella bronchiseptica</i>	Texte français de référence (CNEVA-LCRAP et LDA 22)
BA.210	Mise en évidence de <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i> par immuno- fluorescence	Texte français de référence (CNEVA-LCRAP)
BA.220	Isolement et identification d' <i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	Texte français de référence (LDA 22)
BA.230	Isolement et identification de <i>Streptococcus suis</i> , séro groupe 1,2	Texte français de référence (LDA 22)
BA.240	Isolement et identification de <i>Taylorella equigenitalis</i>	Texte français de référence (ACSEDIATE)
BA.250	Recherche de la loque américaine par bactérioscopie	OIE Manual*, 1992, B75
BA.260	Isolement et identification de <i>Francisella tularensis</i>	Texte français de référence (LDA 36 et CNEVA-LCRV)

Le texte français de référence est un document technique approuvé par le groupe d'experts en bactériologie animale de la Commission Sectorielle «Santé, Protection et Qualité Animales» et édité sous le titre "Méthodes et techniques de référence pour les essais et analyses en bactériologie animale", ouvrage collectif, CNEVA éditeur 1993.

* OIE Manual of standard for diagnostic tests and vaccines, 1992 (Office International des Epizooties, 12, rue de Prony, 75017 PARIS - FRANCE)

II - EXIGENCES

2.1. EXIGENCES GENERALES

Elles sont définies dans les règlements de la Section Laboratoires du COFRAC rappelées ci-après :

- l'aptitude d'un laboratoire ou organisme d'essais à être accrédité par le COFRAC est examinée au regard :

2.1.1. Des critères techniques généraux constituant la norme ISO/CEI 17025.et son guide d'application le document L202A.

2.1.2. Des exigences techniques complémentaires spécifiques à un essai ou une catégorie d'essais qui figurent dans les programmes d'accréditation approuvés par les Commissions Techniques d'Accréditation.

2.2 - EXIGENCES TECHNIQUES SPECIFIQUES

Outre les exigences prescrites par le règlement intérieur du COFRAC Section Laboratoires, un laboratoire doit satisfaire, au titre du présent programme, aux exigences techniques spécifiques qui suivent.

La manipulation des organismes pathogènes de classe 3 doit se faire conformément aux annexes 1 et 2 du présent programme approuvées par la Commission Sectorielle «Santé, Protection et Qualité Animales».

2.2.1 - Remarques liminaires concernant les produits soumis à analyse :

Les règles de prélèvement ne sont pas incluses dans le présent programme car elles sont de la responsabilité des demandeurs d'analyses et non de celle des laboratoires. Le rapport d'analyse doit porter mention de l'identité et de la qualité de celui qui a prélevé le produit soumis à analyse.

Les produits soumis à analyse quelle qu'en soit l'origine doivent parvenir au laboratoire de bactériologie dans les conditions exigées par les méthodes d'analyses. Il est recommandé que chaque préleveur soit informé des indications, des modalités de réalisation, de conditionnement et d'acheminement de chaque type de prélèvement, ainsi que des conditions de recevabilité ou de rejet de la demande. Toutes les informations relatives au prélèvement doivent être séparées physiquement du prélèvement.

Si les échantillons parvenant au laboratoire ne satisfont manifestement pas à ces exigences, le laboratoire doit, soit refuser les échantillons, soit émettre des réserves sur la signification des résultats.

2.2.2 - Exigences techniques spécifiques

2.2.2.1 - Personnel

2.2.2.1.1 - Qualification

Ce paragraphe sera traité ultérieurement.

2.2.2.2 - Locaux

Les locaux doivent être conçus, aménagés, agencés, entretenus conformément à l'annexe 4, approuvée par la Commission Sectorielle « Santé, Protection et Qualité Animales ».

2.2.2.3 - Equipements et matériels

Le laboratoire doit disposer des équipements et matériels correspondant aux exigences de la méthode à appliquer.

En fonction des besoins, le laboratoire de bactériologie doit être doté des appareils, équipements et matériels consommables suivants :

- Système d'éclairage du plan de travail adapté aux conditions d'ambiance.
- Bec Bunsen ou Mecker ou dispositif équivalent.
- Microscope adapté à l'observation des microorganismes et de leurs colonies.
- Dispositifs d'ensemencement.
- Petits instruments destinés au traitement des prélèvements.
- Etuves et/ou chambres-étuves adaptées et réservées à l'usage bactériologique.
- Agitateurs de type Vortex ou dispositifs équivalents.
- Dispositifs de décontamination et de stérilisation adaptés au matériel utilisé.
- Enceinte à froid positif (par exemple : réfrigérateur), réservée à l'usage bactériologique. Des zones de stockage doivent y être individualisées et identifiées de façon à éviter toute intercontamination.
- Congélateur ($\leq - 18^{\circ} \text{C}$) ou tout dispositif équivalent.
- Système adapté à la conservation des souches.
- Centrifugeuse avec système limitant les risques de contamination.
- Balance de portée et de précision adaptées.
- pH mètre de précision de lecture de 0,1 unité pH.
- Lames porte-objets et lamelles.
- Pipettes Pasteur stériles.
- Verrerie et matériel à usage unique adaptés.
- Dispositif de pipetage mécanique adapté.
- Bain(s) d'eau thermostaté(s).

2.2.2.4 - Produits soumis à l'analyse

1. Réception

Le laboratoire doit avoir mis en place des procédures destinées à éviter toute contamination par la circulation des prélèvements et des documents potentiellement souillés les accompagnant.

2. Enregistrement

Les commémoratifs concernant le produit soumis à analyse doivent être consignés.

Sur le document manuel ou informatique où sont consignés les commémoratifs, il est recommandé de faire figurer les informations suivantes : date de prélèvement, date de réception, références du demandeur, identité et qualité du préleveur, nom de la personne ayant réceptionné le prélèvement, identification du prélèvement, espèce animale d'origine, nature et état du prélèvement, température à respecter et lieu de stockage, essai(s) ou analyse(s) à réaliser.

3. Stockage / conservation

Le produit soumis à analyse doit être maintenu dans des conditions qui limitent toute altération et intercontamination pendant une durée adaptée aux exigences des méthodes d'analyse.

4. Elimination

Compte tenu des risques pour l'homme et les autres espèces animales, le laboratoire doit mettre en place une procédure adaptée pour le traitement et l'élimination de chaque type de déchet liquide ou solide, qui prévienne la contamination des personnels, des locaux, de l'environnement et des échantillons.

La procédure décrit les moyens et lieux de stockage, les circuits et les rythmes d'élimination, les procédés de décontamination, de traitement des incidents ou accidents, notamment la désinfection des locaux, le contrôle et la maîtrise des pollutions, le traitement des contaminations éventuelles du personnel.

2.2.2.5 - Exigences spécifiques concernant les milieux de culture

Le laboratoire doit procéder à la préparation des milieux de culture dans un local réservé à cet usage ; toutefois la préparation de milieux à usage immédiat peut être réalisée dans les locaux destinés à l'ensemencement.

Le laboratoire doit se conformer aux exigences de la norme NF V 08-002 en ce qui concerne la préparation des milieux. Cependant, l'usage d'autres dispositifs techniques apportant des garanties équivalentes (appareils automatiques, système de filtration) est admis. Le laboratoire doit assurer le contrôle des milieux prêts à l'usage conformément aux exigences figurant dans les méthodes analytiques.

Le laboratoire doit décrire les conditions de conservation des milieux et réactifs préparés en tenant compte des spécifications du fabricant si elles existent.

Le laboratoire doit apporter la preuve que l'eau destinée à la fabrication des milieux est appropriée à cet usage.

III - EVALUATION

L'équipe d'audit chargée des opérations d'évaluation comprend un auditeur qualitatif et un auditeur technique spécialiste des analyses du domaine considéré.

En outre, les laboratoires accrédités au titre du présent programme doivent participer à des essais interlaboratoires d'aptitude dont la fréquence et les modalités sont décidées par la Commission Sectorielle "Santé, Protection et Qualité Animales" et utiliser, lorsqu'ils sont disponibles, des produits de référence et des réactifs certifiés par un organisme de certification reconnu par l'Etat.

Pour certains essais du programme, pour lesquels il s'avère nécessaire de prescrire aux laboratoires accrédités leur participation à des campagnes d'essais interlaboratoires d'aptitude, le laboratoire accrédité doit s'engager :

- à participer, à ses frais, aux campagnes d'essais interlaboratoires d'aptitude,
- à présenter spontanément le résultat de ces essais interlaboratoires aux auditeurs du COFRAC - Section Laboratoires lors des différents audits (contrôle, extension, renouvellement,..) effectués dans le laboratoire.

Amendements Septembre 2003 portant :

- sur le responsable technique et ses suppléants : les paragraphes ci-après remplacent ceux supprimés dans le texte et indiquent sur quelles bases la fonction responsable technique est évaluée.

2.2.2.1.1 - Qualification du responsable technique biologiste et de ses suppléants

Le laboratoire doit disposer d'un responsable technique biologiste titulaire d'un diplôme de l'enseignement supérieur au moins équivalent à la maîtrise es sciences, compétent dans le domaine de la bactériologie. Le responsable technique doit en outre justifier d'une expérience des analyses ou des techniques.

Le responsable technique biologiste est responsable de la signature des rapports d'analyse.

Cette responsabilité ne peut être déléguée qu'à un ou des suppléants compétents, nommément désignés dans l'organigramme qui disposent de l'autorité, des connaissances et des informations nécessaires pour assurer la qualité des analyses.

La compétence du responsable technique et de ses suppléants est évaluée par l'expert technique ou l'auditeur technique du Cofrac qui s'assure en particulier de leur connaissance :

- du principe des méthodes et des points critiques (limites des techniques)
- de l'environnement réglementaire et normatif,
- du présent programme d'accréditation,
- du système qualité applicable au laboratoire

Les compétences pour assumer cette fonction doivent être réelles et démontrées en adéquation avec les exigences de la norme ISO/CEI 17025 (§ 4.1.5 notamment les alinéas a/f/h/j/); § 5.2.4. et § 5.2.5..

- suppression des paragraphes (répertoriés 2.2.2.1.3 et 2.2.2.1.4 dans la version précédente) liés à la sécurité et à la protection des personnels, prescriptions qui n'entrent pas dans le champ de l'ISO /CEI 17025.

ANNEXE 1

EXIGENCES ET RECOMMANDATIONS CONCERNANT L'UTILISATION DES POSTES DE SECURITE MICROBIOLOGIQUE

I. Rappels de définitions :

I.1. Catégories de Microorganismes :

Les microorganismes se répartissent en 4 catégories en fonction de leur pouvoir pathogène pour l'homme :

*Catégorie 1 : non pathogènes, ne nécessitant aucune protection particulière

*Catégorie 2 : pathogènes à faible risque

*Catégorie 3 : pathogènes à haut risque

*Catégorie 4 : virus pathogènes à très haut risque

A chaque catégorie de microorganisme correspond un niveau de sécurité biologique (NSB) requis, soit NSB 2 (laboratoire de base, microorganismes de catégories 1 et 2), 3 (laboratoire de confinement, microorganismes de catégorie 3), et 4 (laboratoire de confinement à haute sécurité, microorganismes de catégorie 4). Le NSB1 correspond au "laboratoire standard" où ne sont pas manipulés de microorganismes.

I.2. Poste de sécurité microbiologique (PSM) :

Enceinte destinée à assurer une protection du manipulateur et de l'environnement et le cas échéant du produit manipulé, vis-à-vis de substances biologiquement dangereuses.

- * Type I : chambre ouverte, en dépression , à extraction filtrée et totale
- * Type II : chambre ouverte, en dépression, à évacuation filtrée, à recyclage partiel, doublée d'un flux laminaire vertical
- * Type III : boîte à gants, en dépression , à extraction filtrée et totale (fig. 1).

Les PSM I et III ne protègent que le manipulateur et l'environnement.

Les PSM II protègent le manipulateur, l'environnement et la manipulation.

Les PSM II sont équipés de 1 ou 2 moteurs, selon le type.

- Les enceintes à flux laminaire horizontal, les enceintes à flux laminaire vertical à recyclage partiel et les enceintes à flux laminaire vertical à recyclage total ne sont pas des PSM et ne protègent que la manipulation (fig. 2).
- Seuls les PSM répondant à la norme NF X 44-201, type I ou II, doivent se trouver dans un environnement de NSB2 ou 3.
- Dans ces locaux, les opérations suivantes seront *obligatoirement* réalisées sous un PSM : Toutes les techniques produisant des aérosols tels que la centrifugation, y compris en amont et en aval et en particulier lors de l'ouverture des rotors ; le broyage (grinding) ; le mixage (blending) ; l'ouverture d'ampoule lyophilisée ; le mélange ou l'agitation ; l'utilisation de sondes à ultrasons ; l'ouverture des conteneurs de matériel infectieux en particulier lorsque la pression interne peut être différente de la pression ambiante ; l'inoculation d'un animal, par voie nasale notamment.

Lorsque de fortes concentrations ou de grands volumes d'agents infectieux sont manipulés.

Pour la centrifugation de ce type de matériel, on utilisera un rotor hermétiquement fermé (système "aerosol free") et des tubes de sécurité. Le remplissage, la fermeture et l'ouverture des tubes doivent s'effectuer sous PSM.

Le mode d'emploi et les limitations de ces postes seront expliqués à tous les utilisateurs. Ceux-ci devront avoir été formés à la gestuelle, l'utilisation du plan de travail, la connaissance des risques, l'utilisation de masques et gants et l'utilisation de désinfectants.

Il est souhaitable que l'extraction d'air provenant des PSM soit raccordée à une bouche d'extraction ou le cas échéant située à côté d'une bouche d'extraction.

Si le volume ou la nature de l'activité ne permet pas l'usage de PSM, d'autres systèmes de protection seront étudiés et agréés par le service d'hygiène et de sécurité avant d'être mis en oeuvre.

En NSB3, le nombre de personnes présentes dans le laboratoire ne sera jamais supérieur à celui des PSM ; cependant, une personne supplémentaire travaillant à la paillasse peut, dans certains cas, éviter à celles qui travaillent sous PSM de quitter leur poste pour pallier un oubli ou répondre à l'interphone.

N.B. : Lorsque le plan de travail du PSM est perforé (PSM II), la perforation du plan assurera un flux laminaire enrobant la manipulation *si le plan de travail n'est pas encombré de matériels divers. Le matériel introduit et recouvrant partiellement le plan perforé de reprise d'air diminue d'autant le débit et perturbe le flux qui sera dévié vers l'extérieur. De plus, en cas de renversement de liquides contaminants, ceux-ci pourront être entraînés sous le plan de travail.* Un plan de travail plein (PSM I) avec reprise au fond, en façade et sur les côtés, n'assure pas un flux dit laminaire mais plutôt un rideau d'air faisant barrière entre la chambre de manipulation et l'extérieur. Un plan de travail plein est facilement nettoyable. Le débit d'air de reprise n'est pas diminué quel que soit le matériel introduit. La surface des trous du bandeau de reprise accélère la vitesse d'air qui est souvent supérieure à 1 m/s, ce qui améliore l'efficacité du rideau d'air.

II. Recommandations concernant les PSM

L'aspiration d'air au niveau de l'ouverture frontale des PSM doit être suffisante pour empêcher tout reflux de particules à l'extérieur de l'enceinte (rétrodiffusion).

Le débit du volume d'air aspiré à la reprise (PSM II) doit être supérieur à 40% du volume recyclé pour assurer une bonne protection du manipulateur. Il est impératif de vérifier avec un fumigène qu'il n'y a aucune fuite d'air venant de l'intérieur en effectuant un balayage horizontal haut-milieu et bas de l'ouverture frontale.

Un contrôle conforme au chapitre 8 de la norme NF X 44-201 est indispensable si l'on veut avoir une indication de la protection assurée par un PSM.

III. Désignation et marquage des PSM

Un PSM doit être désigné par l'expression "Poste de Sécurité Microbiologique" qui doit être suivie dans l'ordre des indications :

- de son type (I, II, III)
- de la classe de microorganismes pouvant être manipulés, catégorie 1, 2, 3, ou 4.
- des dimensions hors-tout de la zone de travail (largeur, hauteur, profondeur), exprimées en millimètres ;
- de la référence à la norme NF X 44-201.

Exemple : Poste de sécurité microbiologique type II catégorie 2, 1200 x 600 x 600 - NF X44-201.

Il doit en outre, comporter sur le devant une plaque individuelle précisant :

- le nom du fabricant ou la marque commerciale

- les symboles de son type (I, II, III) et de la classe de microorganismes pouvant être manipulés, catégorie 1, 2, 3, ou 4.
- l'année de fabrication
- le pays de fabrication
- le signal d'avertissement de sécurité "risque biologique" sur fond jaune avec bordure et symbole noirs.
- la référence à la norme NF X 44-201.

N.B. : sur les enceintes qui ne sont pas des PSM et qui ne protègent que la manipulation, il est recommandé d'apposer un panneau indiquant au manipulateur qu'il n'est pas protégé.

IV. Guide de choix théorique des PSM

Le choix d'un PSM dépend bien évidemment de l'utilisation qui doit en être faite.

Conformité à la norme :

Il est recommandé de demander au fournisseur un certificat d'essai de conformité effectué par un organisme de contrôle (LNE par exemple).

On vérifiera que le PSM a :

- une structure métallique (délaisser les structures stratifiées)
- un dispositif d'éclairage en dehors du volume de travail, et d'intensité >400 lx sur l'ensemble du plan de travail ;
- une dimension utile du plan de travail de 1,20 m de largeur au moins pour l'aisance du manipulateur ;
- des filtres d'efficacité supérieure à 99,97% (filtres HEPA) selon la norme NF X 44-013 et contrôlée selon les normes NF X 44-011 et NF X44-013.
- un niveau sonore convenable pour le confort de l'opérateur (≤ 65 dB(A) à 0,3m de la partie frontale).

Les variateurs de vitesse parfois installés sur ces matériels peuvent présenter un danger :

- un abaissement de la vitesse entraînera, ipso facto, un abaissement du niveau sonore mais obligatoirement une perte de vitesse de l'air soufflé et une absence d'écoulement laminaire (PSM II)
- les réglages de vitesse ne doivent en aucun cas être effectués par l'utilisateur si celui-ci ne dispose pas d'appareils de contrôle, et doivent être réservés au constructeur ou à une équipe qualifiée.

V- Conseils d'utilisation des PSM

- Mettre l'appareil en marche au moins 15 minutes avant de commencer à travailler. Ne l'arrêter qu'en dehors des périodes de travail ;
- Ne pas introduire dans le PSM d'objets susceptibles de provoquer des turbulences (PSM II) ;
- Eviter d'encombrer le volume de travail de façon trop importante afin de ne pas obturer les plans ou grilles de reprise d'air et de perturber le moins possible le flux d'air (PSM II) ;
- Ne pas introduire dans le PSM de matériels réputés polluants tels que bois, liège, carton, papier, crayon, gomme (PSM II) ;
- Ne pas introduire dans le PSM de sources de chaleur importante. L'emploi des becs bunsen est vivement déconseillé, utiliser plutôt les appareils piézoélectriques si l'emploi d'une flamme est absolument indispensable (PSM II) ;
- Ne jamais introduire la tête dans le PSM ;
- Ne pas projeter de liquide ou de solide sur la face du filtre. N'accrocher ni ne suspendre aucun objet sur les grilles de soufflage ;
- Nettoyer et dépoussiérer tout objet introduit dans le PSM ;
- Utiliser des équipements vestimentaires adaptés et propres ;
 - Les gants doivent recouvrir les manches.
 - La blouse doit être fermée jusqu'au col ou se fermer dans le dos.
- Ne pas éternuer ni tousser en direction de la zone stérile (PSM II) ;

- Ne pas effectuer de mouvements rapides ou de gestes brusques dans le volume de travail (PSM II) ;
- Maintenir la zone de travail propre. La nettoyer avant et après chaque utilisation et la désinfecter avec un chiffon non pelucheux imbibé d'un décontaminant adapté ;
- N'allumer les lampes UV qu'un quart d'heure avant d'utiliser le PSM et en fin d'utilisation. L'utilisation prolongée des UV ne permet pas une meilleure stérilisation et entraîne la détérioration du matériau de la structure et l'usure des tubes UV. Contrôler et changer régulièrement ces tubes.

VI. Contrôles des PSM

Les contrôles doivent avoir lieu :

- lors de la réception du PSM ;
- lors du changement du (des) filtre(s) HEPA ;
- lors du déplacement du PSM ;
- après projection de liquide sur le filtre HEPA ;
- *systématiquement, au moins une fois par an ;*

Les contrôles doivent porter essentiellement sur (Norme NF X 44-102) :

- la propreté particulaire et biologique de l'air soufflé sur le plan de travail (PSM II) et de l'air extrait du poste ;
- la vitesse et, éventuellement, la laminarité du flux d'air ;
- l'étanchéité du PSM et l'efficacité du bandeau de reprise ;

NB : Ces exigences et recommandations sont très largement inspirées de la référence N°4 à laquelle il conviendra de se référer pour de plus amples informations.

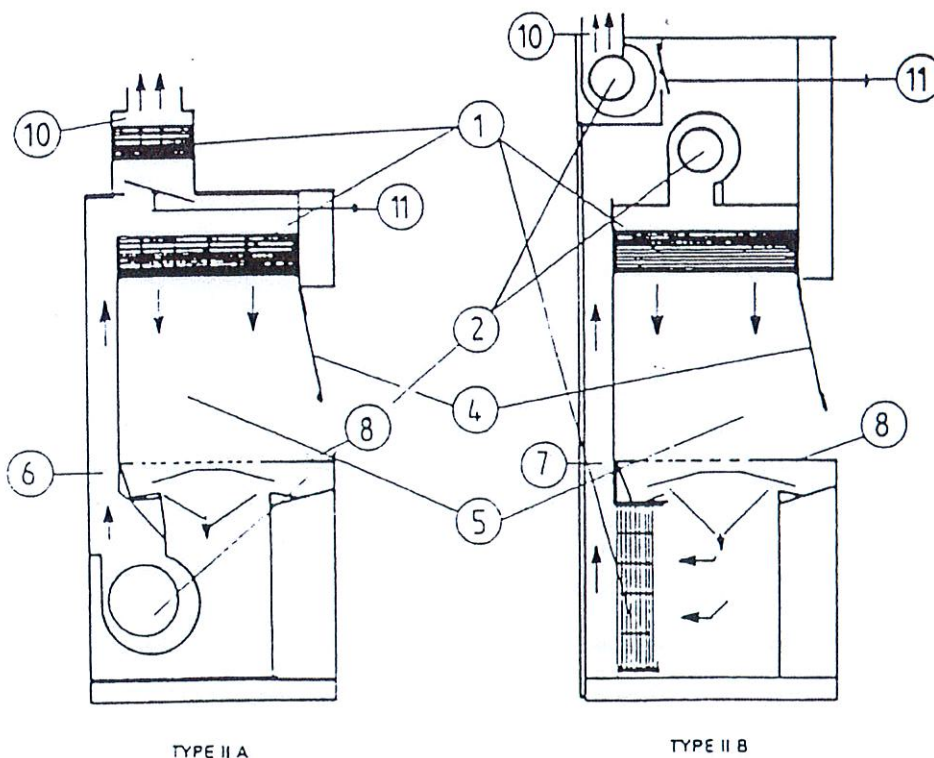
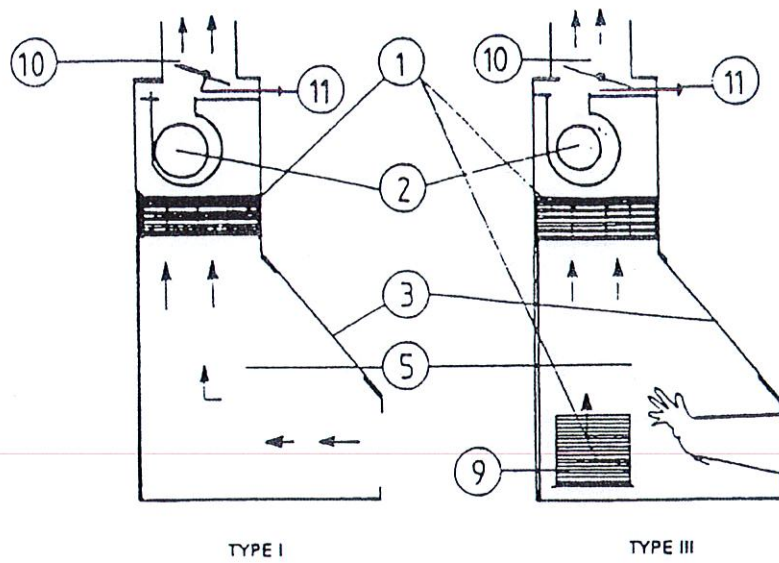


Fig.1 Postes de Sécurité Microbiologique de classe I,II et III.
Schémas extraits de la norme NFX44-201

- 1. Filtre HEPA ; 2. Ventilateur ; 3. Fenêtre ; 4. Porte vitrée ; 5. Zone de travail ; 6. Cheminée de recyclage en surpression ; 7. Cheminée de recyclage en dépression ; 8. Veine d'aspiration ;
- 9. Filtre HEPA d'admission d'air ; 10. Cheminée de rejet ; 11. Réglage d'admission d'air.

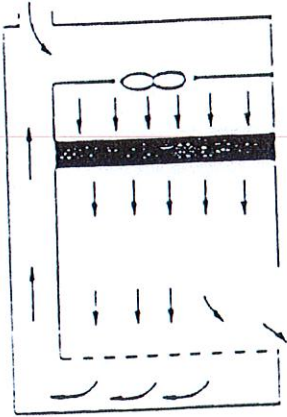
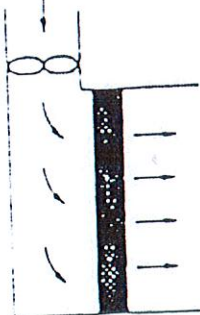
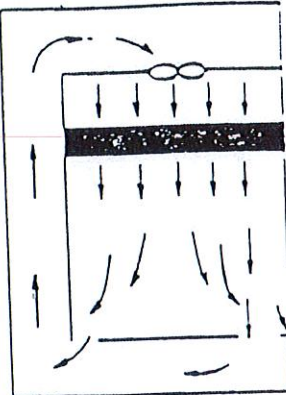
Protection du matériel Manipulateur non protégé	Protection du matériel Manipulateur faiblement protégé
<p data-bbox="252 472 722 584">FLUX LAMINAIRE VERTICAL EN SURPRESSION A RECYCLAGE PARTIEL</p> <p data-bbox="240 741 288 808">B</p>  <p data-bbox="284 1088 722 1133">FLUX LAMINAIRE HORIZONTAL</p> <p data-bbox="272 1256 320 1323">A</p>  <p data-bbox="248 1514 746 1594">Enceintes non classées pour la protection du manipulateur.</p>	<p data-bbox="767 461 1238 528">FLUX LAMINAIRE À RECYCLAGE TOTAL</p> <p data-bbox="791 719 839 786">C</p>  <p data-bbox="783 1055 1262 1200">Dans certaines enceintes, le plan de travail est entièrement perforé pour améliorer la protection des manipulations.</p> <p data-bbox="791 1223 1262 1290">Ces enceintes ne sont pas classées pour la protection du manipulateur.</p>

Fig.2. Enceintes non classées pour la protection du manipulateur.
Schémas extraits de « Prévention en laboratoire de recherche-Risques biologiques »

A. Enceinte à flux laminaire horizontal. B. Enceinte à flux laminaire vertical en surpression à recyclage partiel. C. Enceinte à flux laminaire vertical à recyclage total.

ANNEXE 2

EXIGENCES ET RECOMMANDATIONS CONCERNANT LES CONDITIONS DE SECURITE A RESPECTER POUR LA MANIPULATION DE MICROORGANISMES DE CLASSE 3

I. Rappels de définitions :

I.1. Catégories de Microorganismes :

Il existe 2 classifications retenues en France :

1. Fédération Européenne de Biotechnologie : classes 1, 2, 3, 4 en fonction du degré de pathogénicité pour l'homme;
2. Commission Biosécurité AFNOR : Ea1, Ea2, Ea3 en fonction du degré de pathogénicité pour l'animal.

Ces deux classifications ont été regroupées dans les catégories suivantes qui requièrent un niveau de sécurité biologique spécifique :

*Catégorie 1 : microorganismes ne nécessitant aucune protection particulière, qui sont les microorganismes saprophytes banals et d'une manière générale, toutes bactéries, champignons ou virus à l'exception de ceux désignés dans les autres catégories ou dont l'étude est légalement interdite. La catégorie 1 regroupe les microorganismes non pathogènes pour l'homme et l'animal et ne constituant pas une menace pour l'environnement.

*Catégorie 2 : microorganismes pathogènes par inoculation, par injection, par ingestion et par voie cutanée ou voie respiratoire mais qui peuvent être manipulés sans risque par des biologistes compétents, et d'une manière générale la plupart des espèces pathogènes (humaines ou animales) de pratique courante. La catégorie 2 regroupe les microorganismes de classe 2 (humain) et Ea1 (animal).

*Catégorie 3 : microorganismes pathogènes à haut risque ne devant être manipulés que par des microbiologistes spécialement formés et vaccinés (si le vaccin existe). La catégorie 3 regroupe les microorganismes de classe 3 (humain) et Ea2 (animal) (Tabl.I).

*Catégorie 4 : virus à très haut risque, ne pouvant être manipulés que par du personnel particulièrement averti et avec des consignes de sécurité spécifiques. La catégorie 4 regroupe les microorganismes de classe 4 (humain) et Ea3 (animal).

I.2. Catégories de confinement :

A chaque catégorie de microorganismes correspond un niveau de sécurité biologique minimal requis (NSB):

*NSB2 = PCL1 (ou PCLa1) : pour la manipulation de microorganismes de catégorie 1 et 2 (laboratoire de base)

*NSB3 = PCL2 (ou PCLa2) : pour la manipulation de microorganismes de catégorie 3 (laboratoire de confinement)

*NSB4 = PCL3 (ou PCLa3) : pour la manipulation de microorganismes de catégorie 4 (laboratoire de confinement de haute sécurité).

Le NSB1 correspond aux laboratoires ne manipulant pas de microorganismes.

I.3. Postes de sécurité microbiologique (PSM) : consulter l'annexe 1.

TABEAU I : LISTE DES BACTERIES DE CATEGORIE 3

Genre	Espèce
<i>Bacillus</i>	<i>anthracis</i>
<i>Brucella</i>	<i>spp.</i> (à l'exception de <i>B. ovis</i>)
<i>Chlamydia</i>	<i>psittaci</i> (souches aviaires seulement)
<i>Clostridium</i>	<i>botulinum</i>
<i>Coxiella</i>	<i>burnetti</i>
<i>Francisella</i>	<i>tularensis A</i>
<i>Mycobacterium</i>	<i>africanum</i>
	<i>bovis</i>
	<i>avium - intracellulare</i>
	<i>kansasii</i>
	<i>leprae</i>
	<i>malmoense</i>
	<i>simiae</i>
	<i>szulgai</i>
	<i>tuberculosis</i>
	<i>xenopi</i>
<i>Pseudomonas</i>	<i>mallei</i>
	<i>pseudomallei</i>
<i>Rickettsia</i>	<i>prowazeki</i> (et autres espèces)
<i>Rochalimaea</i>	<i>quintana</i>
<i>Salmonella</i>	<i>paratyphi A</i>
	<i>typhi</i>
<i>Shigella</i>	<i>dysenteriae</i> (type 1)
<i>Yersinia</i>	<i>pestis</i>

II. Les niveaux de sécurité biologique : définitions générales et critères d'application

II.1. NSB1 : laboratoire standard

II.2. NSB2 : laboratoire de base

Ce laboratoire diffère du laboratoire standard (NSB1) car :

- il dispose de personnel qualifié formé à la manipulation des agents pathogènes et est dirigé par un scientifique compétent en la matière,
- l'accès du laboratoire est limité pendant les séances de travail,
- le port de vêtements de travail adaptés, la décontamination de tous les déchets contaminés, et un affichage sécurité spécifique sont notamment obligatoires,
- les procédures génératrices d'aérosols sont conduites en PSM ou au moyen d'autres équipements de confinement physique

Les procédures, équipements et installations de NSB2 sont applicables aux laboratoires de diagnostic, d'établissement d'enseignement ou aux établissements cliniques manipulant des prélèvements contenant ou susceptibles de contenir des agents de catégorie 1 ou 2. Toutes les opérations génératrices d'aérosols du fait de manipulation de produits contenant ou susceptibles de contenir des agents de catégorie 2 sont néanmoins conduites en PSM ou au moyen d'autres équipements de confinement physique adapté.

Dans ces laboratoires, l'absence ou la présence d'un agent pathogène n'est pas connue. Ainsi, à moins que les commémoratifs n'amènent à suspecter un risque plus important, toutes les manipulations seront effectuées avec un niveau de sécurité de type NSB2.

II.3. NSB3 : laboratoire de confinement

Ce laboratoire diffère du laboratoire NSB2 car :

- il dispose de personnel qualifié formé à la manipulation d'agents très pathogènes ou létaux (catégorie 3) et est dirigé par un scientifique compétent ayant l'expérience des manipulations de ces agents,
- l'accès du laboratoire est interdit pendant les séances de travail,
- le port de vêtements spécifiques est obligatoire,
- toutes les procédures impliquant la manipulation de matériel infectieux sont conduites sous PSM ou au moyen d'autres équipements de confinement physique adapté ou par un personnel revêtu de vêtements et autres équipements protecteurs. Le laboratoire dispose par ailleurs d'installations spécialement adaptées.

Les procédures, équipements et installations de NSB3 sont applicables aux laboratoires de diagnostic, aux établissements d'enseignement, aux établissements cliniques, de recherche ou de production manipulant des prélèvements contenant ou susceptibles de contenir des agents de catégorie 3.

Il est reconnu cependant que de nombreux laboratoires ne disposent pas des installations de sécurité adaptées (zone d'accès contrôlé, ventilation en dépression, etc.). Dans ce cas une sécurité suffisante peut être obtenue pour les opérations de routine, par exemple les procédures de diagnostic impliquant la propagation d'un microorganisme pour identification, typage, antibiogramme, etc., avec des installations conformes au NSB2, pourvu que les règles des procédures spéciales et d'utilisation de certains équipements de confinement recommandées pour le NSB3 soient rigoureusement respectées.

Les tableaux II et III suivants donnent les règles de confinement secondaire et primaire (locaux et installations) et les mesures de sécurité minimales recommandées ou obligatoires pour le NSB 3 en comparaison avec celles requises pour le NSB2. La colonne NSB2+ indique les règles de procédures spéciales et d'équipement obligatoires ou fortement recommandées pour la manipulation "de routine" de microorganismes de catégorie 3 dans des installations de type NSB2.

On entend par "zone de manipulation" tout local ou partie de local où sont manipulés les agents correspondant au niveau de sécurité requis ou les prélèvements susceptibles d'en renfermer.

TABLEAU II : Aménagement du Laboratoire :

Locaux, installations et équipement spécial de confinement requis pour les niveaux NSB2 et NSB3

	NSB2	NSB2+	NSB3
Surface au sol par personne $\geq 9 \text{ m}^2$ hors matériel	R	R	O
Surface par poste de travail ≥ 15 à 20 m^2	R	R	O
Locaux situés dans une partie isolable du bâtiment	R	R	O
Etanchéité des murs et ouvertures afin d'assurer une désinfection	R	R	O
Zone d'accès isolant la pièce de manipulation des espaces de passage libre du laboratoire	O	O	-
Sas d'entrée à la pièce de manipulation	R	R	-
Double sas d'entrée			
- premier sas = vestiaire (enlèvement blouse usuelle)			
- second sas équipé d'un lavabo à commande non manuelle et d'un vestiaire (vêtement spécifique enfilé)	-	R	O
- double sas conçu pour éviter sortie des contaminants (ouverture simultanée des 2 portes interdite sauf accident)	-	R	O
- effluents du lavabo décontaminés par traitement chimique ou thermique adapté	-	R	O
- douche de sécurité dont les effluents sont décontaminés par traitement chimique ou thermique adapté	-	R	O
Fenêtre d'observation installée dans les locaux afin que les occupants puissent être vus	R	R	O
Fermeture des portes automatique et verrouillable	-	R	O
Ouverture très aisée de l'intérieur	O	O	O
R = recommandé O = obligatoire			

TABLEAU II : (suite 1)

	NSB2	NSB2+	NSB3
Passe-plats, Sas-machine pour passage de matériel (si possible à décontamination sans arrêt de fonctionnement du laboratoire)	-	R	
Non raccordement à un système de vide centralisé	R	O	O
Circulation entre appareils ≥ 80 cm	O	O	O
Paillasse imperméables, résistantes aux substances acides, alcalines, solvants organiques et à la chaleur,	O	O	O
- d'une longueur ≥ 2 m linéaires par personne	R	O	O
- carreaux de faïence joints au ciment proscrits	O	O	O
Un poste de lavage des mains par pièce de travail	O	O	O
- à fonctionnement non manuel (pied, genou, coude, cellule photoélectrique,...)	R	O	O
Vestiaire et salle de repos à la disposition du personnel (hors NSB2 et NSB3)	O	O	O
Autoclave de décontamination des déchets et matériels	O	O	O
- dans le même bâtiment que le laboratoire	O	O	O
- au même étage que la zone de manipulation	R	O	O
- dans la zone de manipulation	R	R	O
- en frontière de zone (double-entrée, avec stérilisation du premier condensat assurée et ouverture simultanée des deux portes interdite)	R	R	O
Téléphone ou autre moyen de communication vers l'extérieur devant se trouver à l'intérieur des locaux	R	R	O
R = recommandé O = obligatoire			

TABLEAU II : (suite 2)

	NSB2	NSB2+	NSB3
PSM I, II ou III	R	O	O
Si volume ou nature de l'activité incompatibles avec l'usage de PSM, d'autres systèmes de protection doivent être étudiés et validés	R	O	O
Extraction d'air des PSM - située près d'une bouche d'extraction d'air - vers l'extérieur	R R	R R	- O
Pas de PSM sous une bouche de soufflage d'air	R	O	O
Renouvellement d'air $\geq 60 \text{ m}^3/\text{personne}/\text{heure}$ - dans les locaux à risques - dans le laboratoire	O O	O O	O O
Dépression stable $\geq 6 \text{ mm}$ de colonne d'eau	-	R	O
Fenêtres hermétiquement fermées et scellées Moustiquaires (si fenêtres ouvrables)	R O	R O	O -
Arrivée d'air asservie au système d'évacuation, (maintien de dépression en cas de panne de l'extraction)	R	R	O
Ventilation : l'air expulsé est filtré sur filtre HEPA et est rejeté à l'écart de toute prise d'air (pas de recyclage d'air)	R	R	O
Gradient de dépression du moins confiné vers le plus confiné	R	R	O
Pompe à vide et sorties de vide munies d'un filtre HEPA avec piège renfermant un liquide désinfectant adapté	R	O	O
R = recommandé O = obligatoire			

TABLEAU III : Techniques et pratiques de laboratoire requises pour les niveaux NSB2 et NSB3

	NSB2	NSB2+	NSB3
Accès au laboratoire restreint aux personnels informés des risques	O	O	O
Liste des personnels autorisés à rentrer en zone de manipulation affichée à l'entrée en zone	R	O	O
Entrée interdite aux personnes à haut risque pour l'acquisition d'une infection ou celles pour qui l'infection pourrait être particulièrement risquée	O	O	O
Pancarte : "Risque biologique " (NF X44-201) avec mention de la nature du danger, du nom du responsable du laboratoire, des conditions spéciales exigées pour l'accès sur les portes de la zone de manipulation	R	O	O
Pancarte : "Risque biologique " (NF X44-201) sur les portes des enceintes utilisées pour entreposer les microorganismes ou les échantillons susceptibles d'en renfermer	R	O	O
Enceintes utilisées pour entreposer les microorganismes ou les échantillons susceptibles d'en renfermer pouvant fermer à clé	R	O	O
Procédures de contrôle de confinement et/ou des bonnes pratiques de décontamination	O	O	O
Procédure précisant le mode d'emploi, les conditions et les circonstances d'utilisation des désinfectants	O	O	O
R = recommandé O = obligatoire			

TABLEAU III : (suite 1)

	NSB2	NSB2+	NSB3
Plans de travail nettoyés et désinfectés - avant et après chaque période de travail	O	O	O
- après renversement ou projection de matériel biologique	O	O	O
Utilisation sur les plans de travail de papier absorbant en face supérieure et imperméable en face inférieure	R	R	R
Lavage des mains obligatoire - après manipulation de matériel biologique ou d'animaux avant de quitter la zone de manipulation	O	O	O
- avant de quitter le laboratoire	O	O	O
Interdiction de manger, boire*, fumer et se maquiller dans la zone de manipulation	O	O	O
Les aliments et les boissons doivent être stockés dans des enceintes spécialement prévues et désignées à cet effet et localisées hors de la zone de manipulation	O	O	O
Interdiction d'introduire dans la zone de manipulation - des vêtements de ville ou objets personnels	R	O	O
- des animaux ou des plantes (non impliqués dans le travail)	O	O	O
Port de vêtement de travail adapté	O	O	O
Port de vêtement spécifique en zone de manipulation	R	O	O
Vêtement de travail oté, pour tout déplacement hors de la zone de manipulation (cafeteria, bibliothèque, services administratifs, ..)	O	O	O
R = recommandé O = obligatoire			

*Le personnel peut se désaltérer dans les locaux d'essais hors des zones de manipulation

TABLEAU III : (suite 2)

	NSB2	NSB2+	NSB3
Vêtements décontaminés avant d'être envoyés au nettoyage	R	O	O
Port de gants obligatoire lors d'un risque de contact accidentel direct avec du matériel biologique infectieux ou des animaux contagieux	R	O	O
Port de lunettes de sécurité, masques, gants ou autres dispositifs de protection pour les manipulations extérieures aux PSM	R	O	O
Masque filtrant ou appareil respiratoire isolant porté dans les pièces renfermant des animaux contaminés ou à l'ouverture des isolateurs réservés à ces derniers	R	O	O
Travail sous surveillance permanente	-	R	R
Pipetage à la bouche interdit	O	O	O
Matériel plastique préféré au matériel en verre (prévention des coupures)	R	R	R
Utilisation de tubes et flacons munis de bouchons à vis	R	R	R
Eviter les manipulations productrices d'aérosols	O	O	O
Eviter l'usage des aiguilles hypodermiques et seringues	R	R	R
Usage exclusif de seringues à aiguilles verrouillées ou d'unités "seringue avec aiguille" à usage unique.	O	O	O
Recapuchonnage, cassage et pliage des aiguilles interdit			
Aiguilles recueillies dans boîtes anti-piqûres résistantes et autoclavées avant rejet	O	O	O
	O	O	O
R = recommandé O = obligatoire			

TABLEAU III : (suite 3)

	NSB2	NSB2+	NSB3
Décontamination du matériel contaminé avant réutilisation ou élimination	O	O	O
Transport de déchets et matériel contaminé en récipient étanche fermé hermétiquement et pouvant être facilement incinéré ou décontaminé	O	O	O
Déchets et matériel contaminé devant être autoclavés ou incinérés à l'extérieur du laboratoire placés en conteneurs étanches et fermés hermétiquement avant évacuation hors du laboratoire	O	O	O
Désinfection et nettoyage selon un procédé validé des matériels ne pouvant pas être autoclavés	O	O	O
Documents désinfectés avant sortie de la zone de manipulation	R	R	O
Programme régulier de lutte contre les insectes et des rongeurs	O	O	O
En cas d'intervention d'une entreprise extérieure : décontamination préalable du local	R	O	O
Système de décontamination du local	R	O	O
Centrifugeuses munies de dispositifs de sécurité et remplissage et ouverture des godets sous PSM I, II ou III	R	O	O
Utilisation obligatoire des PSM pour les manipulations de matériel contaminé ou génératrices d'aérosols	R	O	O
R = recommandé O = obligatoire			

TABLEAU III : (suite 4)

	NSB2	NSB2+	NSB3
Nombre de personnes présentes ≤ au nombre de PSM + 1 dans la zone de manipulation	R	R	O
Conditions et limites d'utilisation des PSM expliquées aux utilisateurs. Vérification du respect des consignes	O	O	O
Expérimentations menées dans la zone de manipulation devant respecter l'ensemble des règles y afférentes même si les microorganismes étudiés nécessitent un confinement moindre	O	O	O
Expéditions de microorganismes pathogènes ou de matériels biologiques susceptibles de contenir ces microorganismes selon la norme NF X 42-075	O	O	O
Erreurs ou accidents conduisant à une exposition évidente à des agents infectieux signalés immédiatement au responsable du laboratoire et au médecin de prévention	O	O	O
Personnels prévenus des risques d'exposition et tenus de prendre connaissance des instructions de sécurité. Conduite à tenir en cas d'accident clairement affichée dans le laboratoire	O	O	O
Sécurité : une personne compétente et responsable est disponible en cas d'urgence	R	R	O
Une sérothèque de tous les personnels exposés est constituée annuellement et conservée. Le rythme de prélèvement peut être éventuellement accru selon le niveau du risque encouru	R	O	O
R = recommandé O = obligatoire			

ANNEXE N° 4

EXIGENCES ET RECOMMANDATIONS

POUR LES LOCAUX DE BACTERIOLOGIE ANIMALE

1 - Objet :

La présente annexe a pour but de préciser les exigences spécifiques et les recommandations en matière de locaux pour les laboratoires candidats à une accréditation ou accrédités au titre du programme "Essais et analyses en bactériologie animale".

Ce document est formulé en termes d'objectifs qualité. Il a été établi en fonction des besoins et de l'état actuel des connaissances. De ce fait il est susceptible de révision périodique.

2 - Textes de référence :

Norme NF EN 45 001 paragraphe 5 - 3 - 2 (Doc 1002)

Guide ISO CEI 25 paragraphe 7

Norme NF X 42 075 Guide de bonnes pratiques d'analyse et de recherche en microbiologie dans le domaine de la santé animale.

Norme NF X 42 040 Liste des espèces microbiennes communément reconnues comme pathogènes pour l'homme.

Norme NF X 15 201 Paillasses.

Norme NF X 44 102 Enceintes à empoussièremement contrôlé.

Norme NF X 44 201 Postes de sécurité microbiologique.

Guide d'évaluation des locaux d'essais de Microbiologie des aliments à l'usage des auditeurs du COFRAC.

3 - Définitions :

Une distinction doit être faite entre les locaux d'essais proprement dits auxquels s'appliquent l'ensemble des exigences et les locaux annexes.

Locaux d'essais : cf Tableau I

Ensemble des locaux où sont pratiquées les diverses manipulations nécessaires à la réalisation des essais faisant l'objet du présent programme telles que:

- réception, stockage, tri, conditionnement et éventuellement réexpédition des prélèvements

- préparation et stérilisation des milieux de culture et du matériel propre,

- préparation et traitement des échantillons tels que : broyages, émulsions, dispersion, filtration, conservation et élimination,

- ensemencements, repiquages, incubations, conservation des souches, identifications, sérotypage,...

- décontamination et nettoyage des matériels d'analyse, le cas échéant décontamination et destruction des déchets d'analyse.

et éventuellement:- réception des animaux vivants en vue de la réalisation de prélèvements

- et/ou réception d'animaux vivants ou morts aux fins d'autopsies

- et/ou entretien et inoculation expérimentale d'animaux de laboratoire.

Locaux annexes :

Ensemble des locaux en relation fonctionnelle avec les locaux d'essais tels que:

- les accès, couloirs, escaliers, monte-charges ou ascenseurs.

- les locaux administratifs : secrétariat, bureaux, salle de documentation...,

- les vestiaires et les sanitaires.

- les locaux de stockage des consommables de laboratoire.

- les locaux d'archives.

- éventuellement les salles de repos et de restauration.

4 - Conception et aménagement des locaux :

4 - 1- Principes :

La conception et l'agencement du laboratoire doivent tendre à réduire au maximum les risques d'intercontamination entre les échantillons et leur environnement.

Lorsque la configuration des locaux existants ne permet pas de réaliser directement une progression logique dans des emplacements physiquement séparés, le laboratoire prendra les précautions appropriées permettant d'obtenir des garanties équivalentes (séparation dans le temps, utilisation de boîtes de transport étanches ou de sacs plastiques non déchirables...)

L'ensemble des dispositions de maîtrise des circuits doit être décrit dans un document qualité.

Si, en outre, le laboratoire est conduit à pratiquer dans ces locaux d'autres activités, notamment Parasitologie, Mycologie, etc..., il doit prendre toute disposition permettant de garantir la qualité des essais de bactériologie animale.

4 - 2 - Liste des locaux d'essais :

Les salles nécessaires au laboratoire sont au minimum celles indiquées en catégorie obligatoire.

L'utilité de dispositions supplémentaires doit s'apprécier en fonction de paramètres propres au laboratoire : volume important d'analyses réalisées, nature de celles-ci ou autres contraintes particulières.

TABLEAU I

NATURE DU LOCAL	OBLIGATOIRE	RECOMMANDE
I - local de réception, tri conditionnement et stockage des échantillons PSM si danger	X	
II - local de prélèvements sur animaux vivants	X (note 1)	X
III - local d'autopsie	X (notes 1 et 2)	
IV - local de traitement des échantillons (préparation, ensemencement et identification)	X (note 3)	
V - local de préparation des milieux, du matériel propre et de stérilisation (autoclave-four) - séparation des activités	X (note 5)	
VI - laverie	X (note 4)	X
VII - local de décontamination		X (note 5)
VIII - animaleries	X (note 1)	

Note 1 - Dans la mesure où le laboratoire pratique ces activités, ces locaux doivent avoir les caractéristiques d'un local d'essai et pouvoir être nettoyés et désinfectés par des moyens appropriés. Ils doivent permettre la réalisation et le conditionnement des prélèvements dans des conditions qui n'altèrent pas la qualité de ceux-ci et qui permettent de maîtriser, lorsqu'ils existent, les risques de contamination du personnel. L'agencement de la salle d'autopsie doit permettre l'accès et l'élimination des cadavres sans aucun risque de contamination entre cette salle et les autres locaux.

Note 2 - Le local d'autopsie peut être utilisé avec des procédures adaptées pour la réception des prélèvements destinés à la bactériologie animale.

Note 3 - Des dispositifs adaptés dans l'espace et dans le temps doivent être mis en place pour chaque type de risque. En toute circonstance on ne doit effectuer au même poste et simultanément qu'une seule activité.

Note 4 - La laverie peut être commune à l'ensemble des activités du laboratoire.

Note 5 - Afin de prévenir les risques d'intercontamination, il est recommandé de disposer de locaux séparés équipés chacun d'un autoclave.

TABLEAU II

NATURE DE L'AMENAGEMENT	OBLIGATOIRE	RECOMMANDE
Surface utile de 15 à 20 m ² par poste de travail (9 m ² hors matériel et 2 m linéaires de paillasse par analyste)		X
Murs, plafonds, sols à surface lisse	X (note 1)	
Joints incurvés entre sols, murs et plafonds	X	X (note 2)
Fenêtres et portes fermées pendant les manipulations	X	
Protection contre le soleil placées à l'extérieur	X	
Conduites d'eau et évacuations placées en dehors des plans de travail ou gainées hermétiquement		X (note 3)
Système de ventilation à filtre pour l'air aspiré	X	X (note 4)
Régulation thermique	X	
Paillasses à surface lisse		
Système de lavage des mains et distributeur de savon à commande non manuelle, essuie-mains à usage unique	X	
Placards fixes montant jusqu'au plafond ou accessibles au nettoyage	X	
Bois brut et nu prohibé	X	X
Meubles de laboratoire amovibles		
Rangements et matériels permettant un nettoyage aisé	X (note 5)	
Absence de meubles et de documents autres que ceux strictement nécessaires aux analyses		

Note 1 - Murs, sols, plafonds : le caractère lisse des surfaces s'apprécie en fonction de l'aptitude au nettoyage : le carrelage est admis (sauf pour les paillasses).

Pour les plafonds, l'aménagement idéal est une surface parfaitement lisse avec éclairage encastré. Lorsque la construction du bâtiment ne permet pas de l'obtenir (cas des faux plafonds ou des éclairages suspendus) le laboratoire devra fournir la preuve de la maîtrise des risques hygiéniques induits et de l'efficacité des mesures préventives adoptées : par exemple mise en place d'un programme de nettoyage et de contrôle des surfaces.

Note 2 - Raccordements avec arrondis : lorsque cette disposition n'a pas été prévue dans la construction du laboratoire il est possible de la satisfaire avec des joints en matériau synthétique ou toute autre disposition offrant des garanties équivalentes.

Note 3 - Systèmes de ventilation :

La ventilation des salles de travail est nécessaire, que ce soit par ventilation naturelle, ventilation forcée ou utilisation d'un climatiseur. Elle doit assurer le renouvellement nécessaire de l'air ambiant sans provoquer de courant d'air susceptible de favoriser les contaminations des échantillons et surtout du personnel.

L'emploi de filtres anti-poussières est recommandé sur toutes les bouches d'aération. Ceux-ci doivent être entretenus et remplacés aussi souvent que nécessaire.

Note 4 - Régulation thermique:

Une régulation thermique adaptée doit garantir le bon fonctionnement des enceintes thermostatées (particulièrement aux périodes chaudes) et assurer le confort du travail sans perturber la qualité des analyses.

Note 5 - Matériel informatique et téléphonique :

L'utilisation de matériel informatique et téléphonique à l'intérieur des locaux d'essais sera possible si les claviers sont pourvus d'une protection transparente, souple et facilement nettoyable. Le système de ventilation des appareils informatiques doit faire l'objet des précautions destinées à éviter les contaminations; par exemple : le flux d'air ne doit pas être dirigé directement vers les paillasses de travail.

6 - Nettoyage ; entretien:

Le laboratoire doit être en parfait état d'ordre et de propreté. Il doit être débarrassé de tout élément sans rapport avec le travail.

Un plan d'entretien et de réfection des locaux sera mis en place. Il devra prévoir les opérations à effectuer en cas d'urgence.

Les sols doivent être nettoyés après chaque jour de travail et en dehors des heures de manipulation, à moins que les dispositions prises par le laboratoire pour limiter l'empoussièrement n'apportent des garanties équivalentes ou supérieures. Dans ce cas il doit être procédé à un nettoyage des sols au moins une fois par semaine.

Les paillasses doivent être nettoyées et désinfectées par le manipulateur avant et après chaque période de travail.

Le laboratoire doit mettre en place une procédure de décontamination des surfaces.

DOCUMENT 4

EXEMPLE Les labos P3.

Site du technopôle Brest Iroise.

Chacun des 6 laboratoires répond à la norme P3. Ils sont constitués de 3 pièces (voir plan détaillé) : un sas douche, un sas personnel et le laboratoire proprement dit. Un système de loquets garantit une circulation en séquence.

Chaque laboratoire est également doté :

- d'un sas matériel
- d'un autoclave à double porte situé entre le laboratoire et le "couloir gris"
- d'une hotte à flux laminaire
- d'une connexion au réseau CO²

La maintenance s'effectue intégralement depuis l'**étage et le sous-sol techniques**.

Le fonctionnement des labos P3 :

Chaque laboratoire dispose d'une centrale de traitement d'air totalement indépendante. Elle permet d'assurer des gradients de pression constants entre les différents compartiments du laboratoire.

Chaque laboratoire est exclusivement alimenté en air neuf.

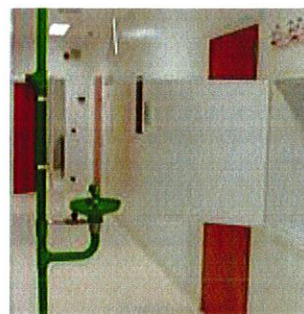
Il est **filtré et stabilisé** en température et en hygrométrie.

De technologie récente comme l'ensemble des équipements, les centrales s'adaptent en temps réel aux pertes de charge engendrées par la filtration.

L'air extrait est filtré avant d'être rejeté dans le milieu naturel.



Hublot de surveillance - Arrivée de CO₂ - Hotte - Autoclave.



L'un des 2 couloirs d'accès aux labos P3 et sas matériel



Congés d'angle dans l'ensemble du bâtiment



Couloir gris : sortie autoclave et hublots de surveillance

L'étage

Les 7 **centrales de traitement d'air** de la zone P3, une par laboratoire et une pour les annexes, ainsi que les 19 centrales de la zone P2 se situent **à la verticale des laboratoires.**

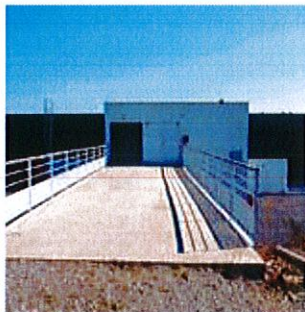
(voir schéma de principe P2 et schéma de principe P3)

Il comprend en outre :

- la chaufferie, le poste de distribution électrique, un local de stockage, le local informatique.

Il est relié par une passerelle à un vaste parking destiné au personnel.

Au sud, une vaste **mezzanine** domine l'entrée de la rade et donne accès à deux terrasses.



Double réseau de récupération d'air -
Circulation et accès aisés aux équipements



Passerelle d'accès depuis le parking 100 places



La chaufferie

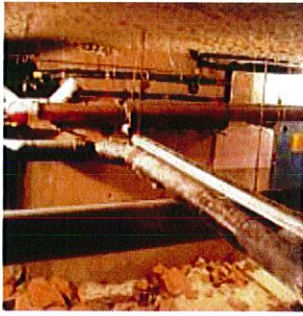
Le sous-sol

Il offre un **accès à chaque laboratoire.**

Il accueille les **réseaux de fluides** :

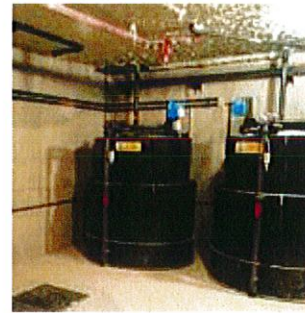
- de desserte en eau :
 - eau adoucie, boucle d'eau chaude,
- d'eaux usées :
 - issues des laboratoires (conduites en polypropylène),
 - issues des autoclaves, (conduites en fonte)
- de gaz spéciaux.

Il renferme une station de traitement des effluents - **kill tank** - restituant une eau à PH neutre



3 réseaux d'eaux usées séparés :
eaux pluviales, labos, autoclaves

Alimentation CO2



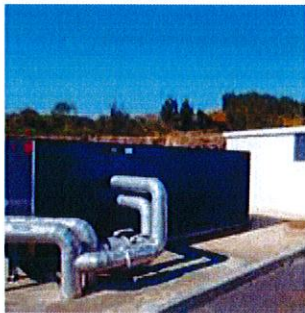
Kill tank : cuves de soude, d'acide et de traitement.

La zone énergie-froid

L'alimentation électrique du bâtiment comprend un transformateur électrique en propre, un groupe électrogène de 250 KVA et un onduleur qui protège les systèmes informatiques.

Deux **groupes froids** assurent une capacité de production frigorifique de 172,2 KW chacun.

Le chauffage et l'alimentation de la boucle d'eau chaude sont assurés par deux chaudières au gaz de 345 KW.

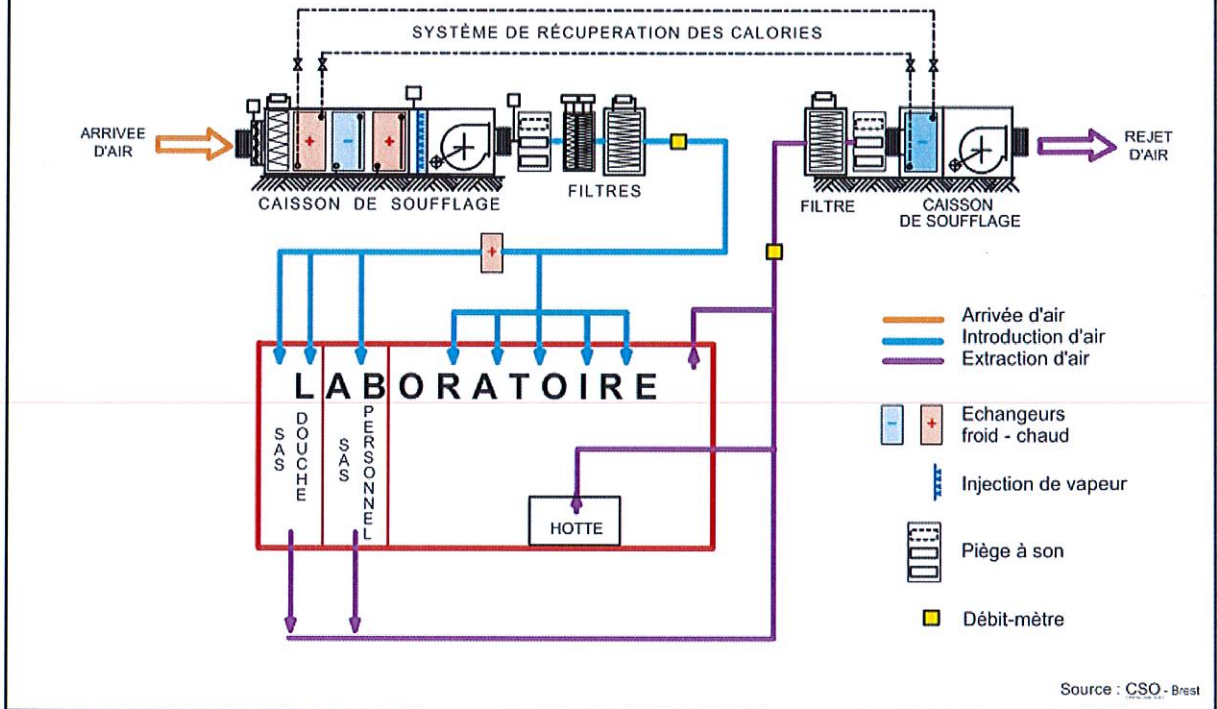


Groupes froids doublés - Transfo EDF spécifique - Groupe électrogène.

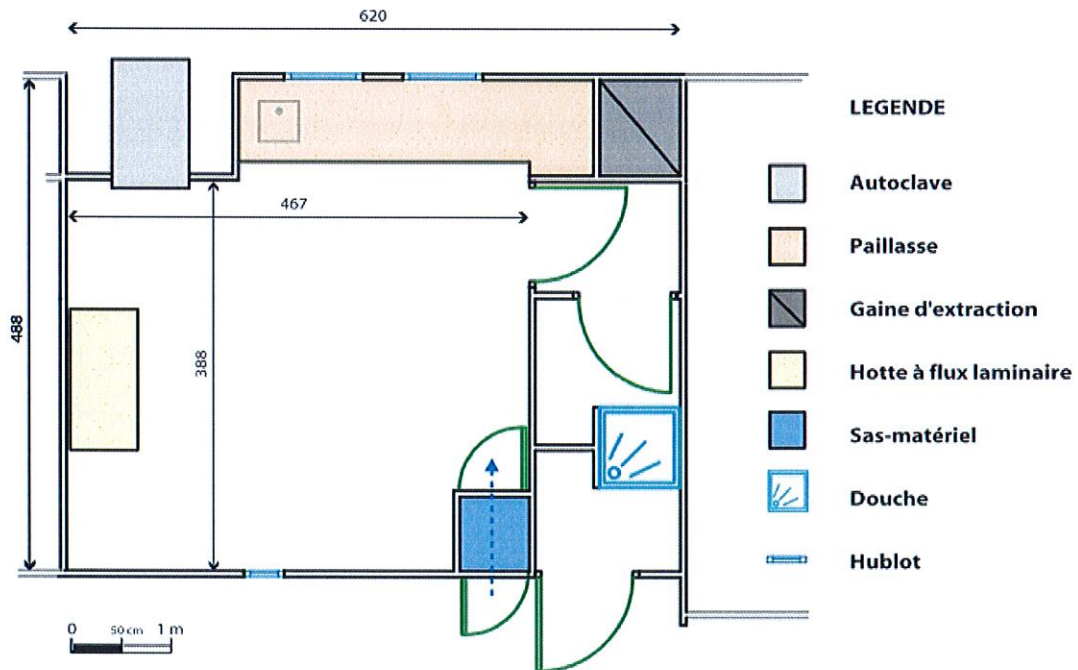


Le groupe électrogène, le transformateur et les groupes-froid.

LABORATOIRE P3 - SCHEMA DE PRINCIPE



LABO P3 - PLAN DÉTAILLÉ





Ordre de service d'action

Direction générale de l'alimentation Sous-direction de la politique alimentaire BERL 251 rue de Vaugirard 75 732 PARIS CEDEX 15 0149554955 N° NOR AGRG1412779N	Note de service DGAL/SDPAL/2014-426 27/05/2014
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------

Date de mise en application : 03/06/2014

Diffusion : Tout public

Cette instruction n'abroge aucune instruction.

Cette instruction modifie :

DGAL/SDSPA/N2007-8038

Nombre d'annexes : 1

Objet : Modification de la note de service DGAL/SDSPA/N2007-8038 du 31 janvier 2007 relative aux laboratoires agréés pour le diagnostic sérologique et virologique de la peste porcine classique.

Destinataires d'exécution
ANSES DRAAF

Résumé :

Textes de référence : L.202-1 et R.202-8 du code rural et de la pêche maritime.

1. La note de service DGAL/SDSPA/N2007-8038 du 31 janvier 2007 est modifiée comme suit :

- Les annexes 1, 2 et 3 sont supprimées ;
- l'annexe 4, relative au cahier des charges que les laboratoires agréés en sérologie (neutralisation virale) ou en virologie (RT-PCR) doivent respecter en permanence en ce qui concerne les locaux et le degré de confinement, devient l'annexe 1.

2. La note de service DGAL/SDSPA/N2007-8038 du 31 janvier 2007 est désormais rédigée comme suit :

I – Liste des laboratoires agréés

La liste des laboratoires agréés pour le diagnostic sérologique et virologique de la peste porcine classique est consultable sur le site internet du ministère chargé de l'agriculture depuis la page d'accueil > Santé et protection des animaux > Maladies animales > Laboratoires agréés et méthodes officielles > PPC – liste des laboratoires agréés

L'adresse informatique est la suivante :

<http://agriculture.gouv.fr/laboratoires-agrees-methodes-officielles-sante-animale>

Cette liste est mise à jour en tant que de besoin.

II – Cahier des charges à respecter par les laboratoires agréés

Le cahier des charges que les laboratoires agréés en sérologie (neutralisation virale) ou en virologie (RT-PCR) doivent respecter en permanence en ce qui concerne les locaux et le degré de confinement est joint en annexe 1.

III – Laboratoire national de référence

Le laboratoire national de référence pour le diagnostic sérologique et virologique de la peste porcine classique est :

Anses

Laboratoire de Ploufragan-Plouzané

Unité Virologie Immunologie Porcines

adresse courrier :

BP 53

22440 Ploufragan

adresse principale :

Zoopôle Les Croix

22440 Ploufragan"

Le Directeur Général de l'Alimentation

Patrick DEHAUMONT

Ploufragan, le 09/02/2004

Site de Ploufragan

LABORATOIRE D'ETUDES ET DE RECHERCHES
AVICOLES ET PORCINES

Unité
virologie,
immunologie
porcines

Cahier des charges à respecter par un laboratoire demandant un agrément pour la réalisation d'analyses sérologique et/ou virologique pour le diagnostic de la peste porcine classique (PPC)¹, ou d'analyses sérologique pour le diagnostic de la Fièvre Aphteuse (FA)

Dossier suivi

par :

Marie-Frédérique
LE POTIER

Le virus de la Peste Porcine Classique provoque des épizooties graves chez les suidés, et représente donc un risque pour l'environnement.

Le virus de la fièvre aphteuse (FA) provoque des épizooties graves chez les artiodactyles et représente donc un risque sanitaire majeur. Ces deux maladies sont inscrites sur la liste A de l'OIE). Elles sont réputée légalement contagieuse et font l'objet de réglementations sanitaires en France et en Europe.

Outre les exigences prescrites par la norme ISO 17025 et celles concernant le fonctionnement des laboratoires d'immuno-sérologie animale, les laboratoires pratiquant la recherche des anticorps Peste Porcine Classique ou Fièvre Aphteuse doivent être aménagés et doivent fonctionner conformément aux exigences définies pour les laboratoires pratiquant des essais et analyses en virologie. D'une manière générale, toutes les précautions doivent être prises pour éviter que des particules virales ne puissent sortir du laboratoire. La mise en œuvre des pratiques de laboratoire définies dans la norme NF X42-075 est fortement recommandée, le virus de la Peste Porcine Classique étant inclus dans la classe Ea2 définie par la commission Biosécurité de l'AFNOR.

N. Réf. :04mp033

V. Réf. :

Zoopôle

BP 53

22440
Ploufragan

Tel 02 96 01 62
22

Fax 02 96 01 62
23

www.afssa.fr

RÉPUBLIQUE
FRANÇAISE

➤ **Par conséquent, les mesures générales de confinement et les procédures spécifiques suivantes doivent être respectées pour la manipulation d'échantillons contaminés a priori par le virus de la peste porcine classique, ou le virus de la fièvre aphteuse :**

1. les manipulations de virus vivant de la Peste Porcine Classique, ou des échantillons de suidés susceptibles d'en contenir, ou de sérums d'artiodactyles susceptibles de contenir du virus Fièvre Aphteuse (sang ou organe provenant d'un foyer avéré ou d'une zone de protection ou de surveillance établie autour d'un foyer) doivent être réalisées dans le secteur confiné (cf item 7) du laboratoire sous un poste de sécurité microbiologique de type II ;

2. les souches de virus de la Peste Porcine Classique doivent obligatoirement être conservées à une température inférieure ou égale à - 65°C dans le secteur contaminé du laboratoire ;

3. l'organisation du travail journalier et celle des circuits doivent permettre d'éviter de manipuler du matériel non contaminé après manipulation du virus ou de l'antigène viral ;

4. si d'autres pestivirus ou des prélèvements susceptibles de contenir des pestivirus, sont manipulés dans le laboratoire, ces manipulations ne doivent pas être faites en même temps que la manipulation du virus de la Peste Porcine Classique, sauf si les installations ou les procédures mises en place par le laboratoire permettent d'éviter les contaminations croisées entre pestivirus ;

5. le laboratoire doit mettre en place un système et des procédures efficaces de décontamination des effluents liquides avant leur rejet, ainsi que des effluents pâteux, déchets solides et matériel contaminé avant leur élimination. Tout matériel recyclable contaminé doit faire l'objet d'une désinfection avant toute nouvelle utilisation (autoclavage à une température égale ou supérieure à 121 °C, pendant au moins 30 min, ou tout autre moyen équivalent) ;

6. les chaussures et les vêtements de ville doivent être quittés dans le vestiaire externe du laboratoire et/ou du local où est manipulé le virus ou les sérums susceptibles d'en contenir. Le personnel doit revêtir dans le vestiaire interne du laboratoire et/ou du local, des vêtements et des chaussures de travail adaptés mis à sa disposition, qui en aucun cas ne doivent côtoyer les vêtements de ville, ni sortir du laboratoire sans décontamination préalable. De plus, un lavabo pour le lavage des mains doit être disposé à la sortie du laboratoire et doit être utilisé avant de reprendre les vêtements de ville. Les consignes sont affichées.

7. le laboratoire ou le local où est manipulé le virus de la PPC ou les sérums susceptibles de contenir du virus PPC ou FA doit être en dépression stable par rapport à l'extérieur d'une valeur minimale de 5 mm de colonne d'eau et doit être pourvu d'un système de filtration absolu de l'air à la sortie (double filtration recommandée), et de sas de communication à doubles portes;

8. le laboratoire ou le local concerné doit être pourvu d'une douche (ou tout autre système d'aspersion équivalent) permettant une décontamination du personnel. Dans le cas de manipulation de virus de la Peste Porcine Classique, la douche doit être utilisée en cas de projection de matériel contaminé. Dans le cas de manipulation de sérum pour le diagnostic sérologique Fièvre Aphteuse, la douche doit être systématiquement utilisée avant de reprendre les vêtements de ville, même en absence de projection. Les consignes sont affichées ;

9. une pancarte mentionnant la manipulation du virus et l'interdiction d'accès au laboratoire aux personnes non habilitées doit être apposée sur la porte d'entrée du laboratoire et/ou du local où sont manipulés le virus PPC ou les échantillons susceptibles de contenir du virus de la Peste Porcine Classique ou du Virus Fièvre Aphteuse. Une liste des personnes habilitées à pénétrer dans la pièce et dans le laboratoire doit être tenue à jour. Les consignes sur le changement de vêtements et les précautions à prendre à l'entrée et à la sortie doivent être également clairement mentionnées.

10. Un document mentionnant l'interdiction d'avoir des contacts avec des animaux des espèces sensibles ainsi qu'avec des éleveurs dans un délai de 48 h après sortie de la zone doit être signé par le visiteur.

➤ **Manipulations d'échantillons non contaminés *a priori* par du virus de la peste porcine classique :**

Dans le cadre de l'épidémiosurveillance, les prélèvements sériques pour recherche d'anticorps anti-virus de la PPC par des techniques ELISA utilisant un antigène non infectieux, peuvent être manipulés dans la partie immuno-sérologie non confinée du laboratoire associée à l'unité confinée de virologie. Pour la détection du génome du virus de la PPC par RT-PCR, les acides nucléiques, une fois extraits dans la zone confinée du laboratoire de virologie, peuvent être

manipulés dans les salles dédiées à la PCR, même si elles sont en dehors de la zone confinée, ceci sous réserve que l'inactivation complète du virus par le processus d'extraction d'acides nucléiques ait été validée au préalable.

➤ Procédure d'agrément

L'agrément est délivré par le Ministre de l'Agriculture, Direction Générale de l'Alimentation après instruction par le Laboratoire National de Référence d'un dossier de demande d'agrément destiné à vérifier l'adéquation entre les conditions minimales requises et les locaux et procédures des laboratoires. Le dossier devra être constitué des pièces suivantes :

- plan des locaux,
- description du traitement de l'air et procédures de contrôle,
- procédures des traitement des déchets et des effluents,
- organisation des circuits (personnel, matériel, prélèvements),
- toutes autres pièces documentaires utiles.

Une visite sur site par un représentant du LNR, aux frais du laboratoire candidat à l'agrément, pourra compléter l'instruction de ce dossier d'agrément.

Les chefs d'unité,
Marie-Frédérique LE POTIER et Stephan
ZIENTARA

i Références normatives et réglementaires

NF EN ISO/CEI 17025, *Prescriptions générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnage et d'essais (indice de classement X 50-061).*

NF U 47-020, *Guide de bonnes pratiques de traitement de l'échantillon soumis à des analyses immuno-sérologiques.*

NF U 47-025, *Recherche d'anticorps contre la peste porcine classique par la technique de neutralisation virale et immunochimie sur culture (IF ou IP)*

NF X 42-075, *Biotechnologies Guide des bonnes pratiques d'analyse et de recherche en microbiologie dans le domaine de la santé animale.*

Directive communautaire : 2001/189 CE du Conseil du 23 octobre 2001 relative à des mesures communautaires de lutte contre la peste porcine classique

Décision n° 2002/106/CE du 1er février 2002 portant approbation d'un manuel diagnostique établissant des procédures de diagnostic, des méthodes d'échantillonnage et des critères pour l'évaluation des tests de laboratoire de confirmation de la peste porcine classique.

Arrêté ministériel 23 juin 2003 fixant les mesures de lutte contre la peste porcine classique

Etapes de conception et construction de bâtiment

Le maître d'œuvre qui dirige la construction d'un bâtiment pour le client, le maître d'ouvrage, suit la **réalisation dans les règles de l'art d'une séquence définie d'étapes qui maximisent la qualité de l'ouvrage final**. Ainsi, le plus souvent, c'est l'architecte mandataire, concepteur d'un bâtiment, qui assure aussi la maîtrise d'œuvre et supervise l'ensemble des étapes d'un projet architectural, éventuellement en collaboration avec un bureau d'étude technique, économiste ou d'autres partenaires, selon les particularités du projet en question.

Bureau d'études bois 14

Toutes études techniques bois Assistance, Exécution, Diagnostic

L'**architecte** est le seul légalement apte à procéder à une mission de conception aboutissant à une demande de Permis de Construire pour des bâtiments au-delà des seuils définis par la loi. Bien que les missions qui ne nécessitent pas l'intervention d'un architecte puissent être confiée à d'autres professionnels, **l'architecte est le plus qualifié pour réaliser l'ensemble des missions, de la conception à la construction jusqu'à la réception**.

Les missions présentées ci-après représentent le cas général, elles peuvent néanmoins différer légèrement selon les caractéristiques individuelles de chaque projet et l'implication du maître d'œuvre.

Les différentes phases de la réalisation d'un projet de bâtiment

1. **Faisabilité du projet architectural et autorisation**
 - La rencontre avec un architecte
 - Etudes d'esquisse – ESQ
 - Etudes d'avant projet – AVP
 - Avant-projet sommaire – APS
 - Avant-projet définitif – APD
 - Dossier de demande de Permis de Construire – DPC
2. **Conception détaillée du bâtiment**
 - Etudes de projet – PRO
3. **Plannification de la construction**
 - Etudes et plans d'exécution – EXE
 - Dossier de consultation des entreprises – DCE
 - Plans d'exécution
4. **Sélection des entreprises de la construction**
 - Assistance aux contrats de travaux – ACT
5. **Le chantier**
 - Direction de l'exécution des travaux – DET
 - La gestion du chantier
 - Ordonnancement, coordination et pilotage du chantier – OPC
6. **Livraison du bâtiment au maître d'ouvrage**
 - Assistance aux opérations de réception – AOR

1. Faisabilité du projet architectural et autorisation

La rencontre avec un architecte

Au premier contact, le **maître d'ouvrage** exprime ses attentes à l'architecte qui l'aide à préciser ses besoins et son programme pour réaliser son projet architectural dans les meilleures conditions. Cette phase initiale de définition des besoins est grandement simplifiée et accélérée grâce au formulaire de **devis d'architecte** mis à disposition par **Architecte de Bâtiments**.

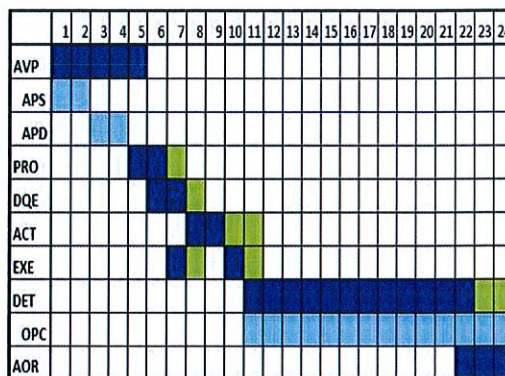


Diagramme de Gantt des différentes étapes de la construction d'un bâtiment

L'architecte informe le maître d'ouvrage sur les conditions relatives au **terrain**, à la construction et aux **fonctions du bâtiment**, à l'éventuelle expertise additionnelle à contracter ainsi que sur les démarches administratives requises. Il s'enquiert du budget du maître d'ouvrage et apporte éventuellement son assistance pour le montage financier. L'architecte décrit l'ensemble des services qu'il se propose de fournir, les **garanties** qu'il apporte et les honoraires correspondant, en accord avec le client. Si celui-ci n'en dispose pas déjà, l'architecte peut également assister le maître d'ouvrage dans la quête d'un terrain approprié.

L'architecte propose ensuite ses services pour une première mission d'étude de faisabilité et de réalisation d'esquisse qui synthétise l'ensemble des requêtes formalisées conjointement avec le maître d'ouvrage, pour un coût limité. Si le maître d'ouvrage accepte les termes de l'architecte, ces-derniers initialisent alors la séquence classique des étapes de la réalisation d'un projet architectural.

Etudes d'esquisse – ESQ ou études de diagnostic – DIA – dans le cas de travaux sur un bâtiment existant

L'architecte présente les résultats de sa première **étude de faisabilité** du bâtiment souhaité et réalise une **première esquisse** en fonctions des différents paramètres liés au terrain, aux options de la construction envisagée par le maître d'ouvrage et de ses contraintes financières. Cette esquisse initiale permet une première visualisation du projet inséré dans le site. En cas de réhabilitation ou de rénovation de bâtiment existant, l'architecte fournit également une étude de diagnostic technique et architectural pour réaliser la modification souhaitée et les travaux requis.

L'architecte précise aussi une **première estimation du coût** des différentes options qui répondent aux attentes du maître d'ouvrage, il peut éventuellement proposer plusieurs options qui mettent l'accent sur telle ou telle condition évoquée par le maître d'ouvrage : minimisation des coûts de construction, minimisation des coûts d'utilisation et d'entretien, maximisation de la longévité de la construction, insertion optimale dans l'environnement naturel ou urbain, qualité architecturale, etc...

A ce stade, rien n'engage le maître d'ouvrage plus avant.

Etudes d'avant projet – AVP

Si le maître d'ouvrage est satisfait des premières études d'esquisse ou de diagnostic, il peut décider de poursuivre les travaux dans les études d'avant projet.

▪ Avant-projet sommaire – APS

A ce point de la relation, l'architecte fournit une **description précise des différentes options** retenues pour le projet de bâtiments et une **estimation du coût et de la durée** des travaux. Une certaine tolérance peut être ménagée en fonction de la taille du projet et de l'état d'avancement actuel des travaux d'études et de construction. Ce document de travail sert à finaliser l'offre de services de l'architecte.

▪ Avant-projet définitif – APD

Les dernières mises au point effectuées en fonction des options retenues par le maître d'ouvrage, le choix des **matériaux** est arrêté, les différentes prestations techniques et l'ensemble des travaux sont précisés avec leur intégration au sein du projet et de la construction, et en conformité avec la Réglementation Thermique 2012 – RT 2012. Pour les bâtiments neufs de plus de 1000 m², une étude d'approvisionnement énergétique et un bilan thermique doivent être engagés et renseignés dans les documents relatifs soumis lors du dépôt de dossier de demande de Permis de Construire.

Un chiffrage précis de l'ensemble du projet est alors finalisé. Les documents qui détaillent les **caractéristiques définitives du projet architectural** et des performances convenues sont rédigés de manière formelle ; ils forment le contrat qui précise point par point l'ensemble des services fournis par l'architecte au maître d'ouvrage durant les phases suivantes.

▪ Dossier de demande de Permis de Construire – DPC

Au-delà des documents techniques, plans et définitions des matériaux, réseaux et fluides, l'architecte prépare l'ensemble des documents administratifs et juridiques, dont l'attestation de prise en compte de Réglementation Thermique 2012, nécessaire à la constitution d'un dossier complet de demande de **Permis de Construire** (PC) qu'il soumet à l'autorité compétente.

Il suit l'instruction du dossier, apporte les éventuelles pièces supplémentaires requises et aide à intégrer les expertises tierces nécessaires en accord avec le maître d'ouvrage jusqu'à obtention du permis de construire.

2. Conception détaillée du bâtiment

Etudes de projet – PRO

L'architecte prépare alors les **plans détaillés** de tous les niveaux du ou des bâtiments, élévations, façades et éventuellement perspectives additionnelles qui assurent une bonne compréhension de l'ensemble du projet jusqu'en dans ses moindres détails. Selon les besoins spécifiques de chaque projet, des bureaux d'études techniques sélectionnés par le maître d'ouvrage sur conseil de l'architecte conduisent en parallèle la mise au point de leur plan d'action, en collaboration étroite avec l'architecte en vue d'une intégration réussie de leur expertise dans l'ensemble du projet.

3. Plannification de la construction

Etudes et plans d'exécution – EXE

▪ Dossier de consultation des entreprises – DCE

Suite à la mise au point définitive de la conception, l'architecte constitue le dossier de consultation des entreprises qui **détaille l'ensemble des caractéristiques techniques et administratives** de chaque lot du projet et **estime les budgets respectifs**, afin que les entreprises intervenantes proposent des devis solides. Celui-ci permet également de préciser le cadre de l'intervention des entreprises et de leurs relations avec le maître d'ouvrage et l'architecte.

▪ Plans d'exécution

Dans le prolongement du DCE, les études d'exécution ont pour objet la **réalisation technique du projet** : les plans d'exécution aux échelles appropriées, les notes de calcul et les spécifications d'usage pour le chantier permettent l'exécution des travaux par les différents entrepreneurs pour la construction de l'ensemble du bâtiment.

Au-delà des plans architecturaux, le maître d'ouvrage peut éventuellement charger l'architecte, assisté de techniciens des spécialités requises, de réaliser les plans d'exécution et devis quantitatifs détaillés de certains lots, dans une mission complémentaire des études d'exécution. Les plans de l'architecte ne se substitue néanmoins en aucune façon aux plans techniques d'atelier, de montage et de mise en œuvre lors du chantier, qui sont toujours dus par les entrepreneurs.

4. Sélection des entreprises de la construction

Assistance aux contrats de travaux – ACT

L'architecte consulte les entreprises capables d'intervenir et analyse les offres des entrepreneurs selon des **procédures bien définies**. Des négociations peuvent être conduites au nom du maître d'ouvrage et des modifications peuvent être apportées pour rentrer dans les budgets alloués. L'architecte assiste le maître d'ouvrage pour la **sélection des différents prestataires de la construction** en fonction des critères retenus avec le maître d'ouvrage. Il peut suggérer les services de telle ou telle entreprise en fonction des expériences passées et garanties de sérieux dont il a déjà eu la preuve. Suite à la sélection des entreprises, **l'architecte prépare les marchés dévolus à chacune des entreprises** ; celles-ci s'engagent contractuellement avec le maître d'ouvrage sur des coûts et des délais qu'elles devront respecter.

5. Le chantier

Direction de l'exécution des travaux – DET

L'architecte prépare la mise en œuvre du chantier et organise la participation des différentes spécialités pour s'assurer du respect des règles de l'art, des engagements de chacun et de la juste réalisation des plans.

• La gestion du chantier

Le maître d'œuvre intervient sur le terrain auprès des différentes entreprises pour **assurer l'exécution conforme des différentes phases de la construction** du bâtiment :

- **Terrassement** du terrain et reliage **Voirie et Réseaux Divers** (VRD)
- **Gros-œuvre** : stabilité et solidité du bâtiment (fondations, structure)
- **Second-œuvre** : étanchéité, esthétique et confort

Le maître d'œuvre anime les réunions de chantiers dont il prépare et diffuse les comptes-rendus à l'ensemble des parties concernées. L'architecte supervise également le paiement des intervenants et l'accomplissement des prestations correspondantes dans les temps prévus.

Ordonnancement, coordination et pilotage du chantier – OPC

L'analyse des tâches élémentaires qui composent les études d'exécution et les travaux, leur enchaînement et les points critiques de cette suite d'interventions, constituent la mission d'ordonnancement et de planification, qui est complémentaire de la maîtrise d'œuvre. Celle-ci a pour but de **planifier avec soin l'imbrication optimale des différentes interventions des entreprises** pour une construction la plus rapide et la moins onéreuse possible.

6. Livraison du bâtiment au maître d'ouvrage

Assistance aux Opérations de Réception – AOR

L'architecte contrôle l'ensemble des travaux effectués et de la réalisation des prestations jusque dans leurs ultimes détails. Il se charge aussi du décompte général des factures des différents prestataires et solde les comptes de chantier.

Le maître d'ouvrage doit attester de la prise en compte de la Réglementation Thermique 2012 à travers une attestation établie à l'achèvement des travaux. Etablie par l'architecte ou un thermicien qualifié selon les caractéristiques du bâtiment, cette attestation assure la cohérence avec l'attestation soumise lors de la de-

mande de Permis de Construire et l'exigence de résultats (besoin bioclimatique, consommation d'énergie primaire, confort d'été).

L'architecte clôture alors le dossier des ouvrages réalisés et confirme ainsi la conformité de l'ouvrage afin de correspondre aux termes des contrats de garanties. Des pénalités peuvent être appliquées aux entreprises qui dépasseraient la durée prévue pour leur intervention.

Une fois l'ensemble des travaux validés par le maître d'œuvre et le maître d'ouvrage, ceux-ci s'accordent de la **réception finale du bâtiment**, et la passation complète de la responsabilité du ou des bâtiments au maître d'ouvrage.

A propos de Architecte de Bâtiments

Le site Architecte de Bâtiments est supervisé et illustré avec les photos des bâtiments réalisés par **Agence Laurent Bansac Architecte**