



## **RONÉOS DFGSP2 2020 - 2021**

### **UE PL2.1 : ATGB 4**

**Date : 03/09/20**

**Plage horaire : 9h25-10h25**

**Enseignant : L'AZOU Béatrice**

**N°ISBN : 978-2-37366-076-0**

Ronéistes

HEUILLET Estelle – [heuilletestelle@gmail.com](mailto:heuilletestelle@gmail.com)

POUGHEON Laura - [laura.pougheon@gmail.com](mailto:laura.pougheon@gmail.com)

## **Risque biologique 2**

### **Plan du cours :**

#### **I Définitions**

#### **II Evaluation et prévention du risque**

#### **III Exemple spécifique**

A - Liés à la manipulation d'animaux

B - Liés à la manipulation de cellules

C - Liés à la manipulation d'OGM

## **I. Définitions**

Dans un premier temps, il faut savoir que le logo est commun aux risques biologiques. Quand on manipule des organismes vivants, on retrouve ce pictogramme sur tous les laboratoires.

Il y aura aussi en commun la définition des risques biologiques qui est constituée de trois parties très importantes qui sont :

Le risque biologique résulte de la **confrontation** entre un **organisme** et des **agents biologiques pathogènes** susceptibles de **rentrer en contact avec lui** et avec pour conséquence, soit de provoquer une **infection**, une **allergie** soit un **cancer**.

On verra la spécificité d'une contamination indirecte, c'est à dire que la personne qui est directement exposée sera l'homme mais pas directement via un autre organisme, ce qui est encore plus compliquée.

Cette confrontation peut se manifester directement ou indirectement :

- L'organisme est l'homme en **contact direct** avec les agents pathogènes, lorsqu'il manipule un **élément biologique** (par exemple le sang avec les accidents), **contenant des agents pathogènes**.
- L'homme **indirectement** peut se contaminer, il faut réfléchir encore plus car il peut se contaminer en manipulant des **cellules** qui elles même peuvent contenir un **agent pathogène**, en manipulant des **animaux** qui peuvent eux aussi en contenir avec des risques spécifiques associés, ou en manipulant des **OGM** (Organisme Génétiquement Modifié).

Dans cette deuxième partie sur les risques biologiques, en complémentarité avec le premier cours, on va prendre en compte le fait qu'il y ait un contact avec un autre organisme contenant l'agent pathogène.

Un agent pathogène peut être

- une bactérie
- un virus
- des champignons
- des parasites
- des prions (agents transmissibles non conventionnels)

## **II. Evaluation et prévention des risques**

On place les agents pathogènes en **4 groupes**, et on les classe en fonction de leur **pathogénicité** chez l'homme, de leur **dangerosité** pour l'opérateur, le fait qu'il existe une **propagation**, une **prophylaxie** ou un **traitement** dans un tableau qui référence toutes les bactéries, pareil pour les virus, les champignons, les parasites...

Critère	GROUPE 1	GROUPE 2	GROUPE 3	GROUPE 4
Pathogène chez l'homme	Non	Oui probable	Oui Maladie grave	Oui Maladie très grave
Dangereux pour l'opérateur	Sans objet	Oui Modérément	Oui Risque élevé	Oui Risque très élevé
Propagation	Sans objet	Peu probable	Possible	Risque élevé
Existence d'une prophylaxie ou d'un traitement	Sans objet	Oui	Oui généralement	Non
Exemples	<i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i> non pathogène	Virus de la rougeole <i>Clostridium tetani</i>	VIH, VHB <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Virus Ebola Virus de la variole

#### 4 classes : faible, modéré, fort, majeur

Tableau C : les parasites

AGEN	AGENT BIOLOGIQUE
T.	Virus
A.	Varice
A.	Virus I (HBLV)
A.	Ortho
A.	Angiostrongylus cantonensis
A.	Angiostrongylus costaricensis
A.	Ascaris lumbricoides
A.	Ascaris suum
A.	Babesia divergens
A.	Babesia microti
A.	Balantidium coli
B.	Papillk
B.	Brugia malayi
B.	Brugia pahangi
B.	Capillaria philippinensis
B.	Capillaria spp.
B.	Clonorchis sinensis
B.	Clonorchis viverrini
B.	Cryptosporidium parvum
B.	Cryptosporidium spp.
B.	Cyclospora cayentanensis
B.	Dipetalonema streptocerca
B.	Diphyllobothrium latum
B.	Dracunculus medinensis
B.	Echinococcus granulosus
B.	Echinococcus multilocularis
B.	Echinococcus vogeli
B.	Rhino
B.	Entamoeba histolytica
B.	Poxvir
B.	Fasciola gigantica
B.	Virus
B.	Virus

Tableau D : les champignons

AGENT BIOLOGIQUE	Groupe	Note
<i>Aspergillus fumigatus</i>	2	A
<i>Blastomyces dermatitidis</i> ( <i>Ajellomyces dermatitidis</i> )	3	
<i>Candida albicans</i>	2	A
<i>Candida tropicalis</i>	2	
<i>Cladophialophora bantiana</i> (anciennement <i>Xylohypha bantiana</i> , <i>Cladosporium bantianum</i> ou <i>trichoides</i> )	3	
<i>Coccidioides immitis</i>	3	A
<i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>neoformans</i> ( <i>Filobasidiella neoformans</i> var. <i>neoformans</i> )	2	A
<i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>gattii</i> ( <i>Filobasidiella bacillispora</i> )	2	A
<i>Emmonsia parva</i> var. <i>parva</i>	2	
<i>Emmonsia parva</i> var. <i>crescens</i>	2	
<i>Epidermophyton floccosum</i>	2	A
<i>Fonsecaea compacta</i>	2	

<i>Fonsecaea pedrosoi</i>	2	
<i>Histoplasma capsulatum</i> var. <i>capsulatum</i> ( <i>Ajellomyces capsulatus</i> )	3	
<i>Histoplasma capsulatum duboisii</i>	3	
<i>Madurella grisea</i>	2	
<i>Madurella mycetomatis</i>	2	
<i>Microsporium</i> spp.	2	A
<i>Neotestudina rosatii</i>	2	
<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	3	
<i>Penicillium marneffei</i>	2	A
<i>Scedosporium apiospermum</i> ( <i>Pseudallescheria boydii</i> )	2	
<i>Scedosporium prolificans</i> ( <i>inflatum</i> )	2	
<i>Sporothrix schenckii</i>	2	
<i>Trichophyton rubrum</i>	2	
<i>Trichophyton</i> spp.	2	

On traite ici de la spécificité de manipuler **indirectement** un organisme qui va être la **cellule**, les **animaux** et les **OGM**.

L'évaluation du risque biologique va être **très compliquée**. Il faudra prendre en compte **l'agent**. Le risque biologique est quasi impossible à évaluer pour les **OGM**, ce sont les **conseils de haute autorité** qui le font pour nous.

Les **risques biologiques**, contrairement aux **risques chimiques**, sont difficiles évaluables, car il n'y a **pas d'effet seuil**, il suffit d'avoir un **micro organisme**, un agent pathogène pour que ce soit contaminant car il est susceptible de se **reproduire**, donc il n'y a pas de possibilité de faire de **dilution**. Cumulé au fait que ce soit un contact indirect, il faut prendre en compte la **spécificité de l'environnement**.

Cela va être compliqué d'évaluer, le danger, le risque.

Il faut absolument évaluer les dangers, et on va prendre **tous les moyens de protection**, de **confinement**, pour que le danger soit **minimisé** pour travailler dans de **bonnes conditions**.  
Donc **l'évaluation est complexe** mais il faut le faire.

Prévenir le risque c'est d'abord connaître le **danger**, pour adapter le **niveau de confinement au risque**.

### III. Exemples spécifiques

#### A. Liés à la manipulation d'ANIMAUX

Pour pouvoir évaluer le risque quand on manipule des animaux, c'est assez compliqué.  
Il faut de se poser des **questions simples** et **essayer d'y répondre**:

- *par **QUOI** on est contaminés ?*
- ***QUELS** seront les effets ?*
- ***COMMENT** peut-on se contaminer ?*
- ***QUELS** sont les gestes à risque ?*
- ***OÙ** se situe le danger ?*

Au final, on se demande :

- **QUI ?**
- **QUOI ?**
- **COMMENT ?**
- **OÙ ?**

Répondre à ces simples questions nous permettra d'établir :

- **l'organisation du travail**
- le **niveau de confinement**
- les **protections collectives**
- les **protections individuelles** (masque, charlotte, bottes)
- les **locaux**
- la **gestion des déchets** (nous sommes responsables de nos déchets et du tri qui s'en suit)

#### a. **QUI, QUOI ?**

- **QUI ?**
- Les agents pathogènes nous contaminent soit directement, soit car ils sont dans les animaux les plantes, ou autres.
- **Quel TYPE d'agent pathogène ?**
- Bactéries, virus, parasites, ou champignons
- De classe 1, 2, 3 ou 4 (classement en fonction du niveau de sécurité croissant)

## Classement des agents biologiques

La liste des agents biologiques pathogènes a été fixée par l'arrêté du 18 juillet 1994 (J.O. du 30 juillet 1994) puis modifié par les arrêtés du 17 avril 1997 (J.O. du 26 avril 1997) et du 30 juin 1998 (J.O. du 22 juillet 1998).

L'évaluation des risques infectieux, prescrite par le décret n° 94-352 du 4 mai 1994 relatif à la protection des travailleurs contre les risques résultant de leur exposition à des agents biologiques (J.O. du 6 mai 1994), est effectuée sur la base d'un classement des agents biologiques en 4 groupes en fonction de l'importance du risque d'infection qu'ils présentent (art. R. 231-61-1).

- **Groupe 1** comprend les agents biologiques non susceptibles de provoquer une maladie chez l'homme
- **Groupe 2** comprend les agents biologiques pouvant provoquer une maladie chez l'homme et constituer un danger pour les travailleurs ; leur propagation dans la collectivité est peu probable ; il existe généralement une prophylaxie ou un traitement efficace.
- **Groupe 3** comprend les agents biologiques pouvant provoquer une maladie grave chez l'homme et constituer un danger sérieux pour les travailleurs ; leur propagation dans la collectivité est possible, mais il existe généralement une prophylaxie ou un traitement efficace
- **Groupe 4** comprend les agents biologiques qui provoquent des maladies graves chez l'homme et constituent un danger sérieux pour les travailleurs ; le risque de propagation dans la collectivité est élevé ; il n'existe généralement ni prophylaxie ni traitement efficace.

Sont considérés comme agents biologiques pathogènes, les agents des groupes 2, 3 et 4.

**Comment ?**

**Où ?**

**4 groupes**

**4 niveaux de Confinement**

**Animalerie A1 à A4**

Cela nous permet de déduire quatre niveaux de confinement et dans quel niveau d'animalerie on se situe à savoir **A1, A2, A3 et A4** (par ordre croissant de niveau de sécurité).

Quand on travaille dans des animaleries, le **statut sanitaire de tous les animaux sont connus**.

### **b. COMMENT ?**

Ce qu'on va voir ici c'est le contact avec l'organisme par voie **cutané, oculaire, digestive** ou voie **respiratoire**.

Quand on travaille sur des animaux, il faut faire attention au fait qu'ils **mordent** (surtout les souris et les rats).

On peut avoir des **allergies** à l'animal, à la litière.

Dans les **urines**, il peut y avoir des **agents pathogènes**.

Les **dissections**, les **anesthésies** sont des **gestes à risque**. Quand on travaille avec un animal il faut toujours se demander comment on peut se contaminer, **il n'y a pas que l'agent pathogène il y a tous les gestes à risque à prendre en compte** (scalpel etc).

L'important est d'**évaluer le risque**, car il y a plein de système pour ne **pas manipuler directement des animaux**, des **chambres de contention**, il y a des **conteneurs de transfert**, des **stérilisateur**s pour stériliser la litière. Il y a tout un système de **station de change**.

**Il faut connaître le danger, pour évaluer le risque et enfin adapter son travail.**

### **c. OÙ ?**

Puis, il y a les animaux, les litières, mais aussi **tout le matériel**, la paille utilisée et les déchets à prendre en compte et auquel il faut faire attention.

Les scalpels, les aiguilles pour faire les anesthésies sont à mettre à part dans un **conteneur**, on met les solides et les liquides dans des **conteneurs spéciaux**, il y a **les déchets anatomiques** à considérer également...

*Il faut tout anticiper pour travailler dans de bonnes conditions.*

On achète tous les animaux dans des **élevages conventionnés, agréés** et qui nous vérifient le **statut sanitaire** de tous les animaux.

Il suffira également de prendre la liste des agents pathogènes, savoir si l'animal en contient et voir quel numéro on attribue si l'animal contient un agent pathogène.

Il existe *plusieurs types d'animaux* :

- **Conventionnels** (porteurs de n'importe quel micro-organismes).
- **EOPS**, qui n'ont pas d'agents biologiques spécifiques de l'espèce considérée
- **Axéniques**, exempts de tout germe, même pas de flore intestinale
- **Géno-toxygéniques** abritants une flore connue et exclusivement celle là
- **Mutants**, notamment les souris nues, des souris qui ont été mutées car on introduit un gène que l'on a modifié et qui ont rendu ces souris immunodéficiente )
- **Transgéniques**, possédant dans son génome un ADN étranger (souris knock out: il leur manque un gène, se rapproche de l'OGM)

Ce sont des animaux dédiés uniquement à la recherche, on introduit ou pas un agent biologique pathogène selon sur quoi on veut travailler.

On choisit le statut de notre animal.

Quel type d'animaux? Quel agent biologique sur lequel nous allons travailler ?

Cela est garanti par les **fournisseurs** et beaucoup de laboratoire de recherche travaillent sur des **animaux conventionnels** et on nous garantit le **statut sanitaire**.

*(pas l'hépatite B, pas le SIDA, pas Ebola, pas Creutzfeld-Jacob...)*

Ensuite, il faut se demander s'il y a une **ZOONOSE**, c'est à dire une *maladie dont l'animal est porteur, transmissible à l'homme et réciproquement*.

Si on travaille sur un animal **porteur d'un agent pathogène** qui ne sera **jamais transmissible** à l'homme, *on ne prend aucun risque*.

Normalement il y a *très peu d'agents pathogènes portés par des animaux et transmissibles à l'homme* (grippe aviaire).

Une fois qu'on a déterminé le statut sanitaire des animaux et le fait qu'il présente ou non une dangerosité (présence d'un agent de pathogène) et une transmission à l'homme, on va adapter le **niveau de confinement**, c'est à dire l'**Animalerie 1, A2, A3 et A4** qui reste exceptionnelle. Il faudra **former le personnel, un animalier adapté, qui s'occupe des animaux, qui connaisse le règlement interne**.

La prévention et les niveaux de confinement vont varier en fonction de A1, A2, A3 et A4.

## **B. Liés à la manipulation de cellules**

On va prendre l'exemple de la culture cellulaire.

Au départ ça peut nous paraître assez simple sauf que c'est plus compliqué que les animaux.

Il faut se poser deux fois plus de questions car un animal est visible à l'oeil nu, contrairement à une cellule au fond d'une boîte, il est difficile de déterminer l'espèce, son origine etc...

Forcément il faudra se poser les bonnes questions:

- Est ce que les cellules sont issus d'un organisme qui contient un agent pathogène ?
- Est il dangereux pour l'homme ?

On manipule des cellules vivantes, pas forcément "dangereuses" mais qui nécessitent le fait qu'on ait à se poser les bonnes questions. Cela nécessite encore de se poser des questions simples.

- *Quelle est l'origine des cellules ?* (Animales, végétales, humaines)

On doit garantir **l'origine des cellules**. Par exemple, ce sera différent si on manipule un **petit animal** tel qu'un rat ou si on manipule un **singe** car il y a des **apparentés** à prendre en compte.

Quand on travaille avec une cellule d'un **petit** animal de laboratoire, on peut travailler en **L1** sans problème à condition qu'il ne contienne **pas un agent pathogène**, par contre si je travaille sur un **bovin** dont le statut sanitaire est **sans danger** je peux travailler aussi en **L1** à condition qu'on ne travaille pas sur du **tissu nerveux**, des cellules **lymphoïdes**, même si le statut sanitaire est sans danger. Le **type** de cellule va **m'annoncer le niveau de confinement**. Il ne faut pas se contenter de l'agent pathogène.

- *Quel est le type de cellule qu'on manipule ?*  
C'est à garantir par exemple si elles proviennent du sang, du tissu nerveux (attention très contaminant, il y a une dangerosité qui est exacerbée)

Maintenant, il faut s'intéresser au **type de culture**. Il y a des cellules primaires et des cellules immortalisées des lignées.

Il faut aussi se poser les mêmes questions.

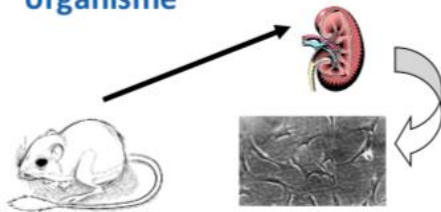
- Pour une primo culture, c'est à nous de réaliser la culture, on va prendre un animal, on va lui prendre une cellule du rein, et en faire une culture de cellules de rein.

Quand on travaille sur des cellules humaines, on prend beaucoup de précautions car on peut ne pas connaître toutes les informations qu'on a sur les virus.

Quand on travaille sur un **singe**, on se place toujours dans un **laboratoire de type 2**.

Quand on travaille sur l'**homme**, cela dépend, mais en général c'est un **laboratoire de type 3** sauf si le fournisseur nous garantit toutes ces informations et à ce moment là on suit ses recommandations.

### Primoculture : cellules dissociées à partir d'un tissu provenant d'un organisme



- Risques liés à l'origine du tissu
- Risques liés au type de cellules prélevées

Origine des cellules		Niveau de confinement
Petits animaux de laboratoire (non infectés expérimentalement)		L1
Animaux sauvages (selon l'espèce et l'origine géographique)		L2 minimum
Bovins	tissus nerveux ou lymphoïdes, si statut sanitaire reconnu sans danger	L2
	autres tissus, si statut sanitaire reconnu sans danger	L1
	si soupçon d'encéphalopathie spongiforme	L3
Singes	si contrôles négatifs SIV, Herpès B, hépatites et tuberculose	L2
	si contrôles non faits ou positifs	L3
Hommes	absence de soupçon d'infection par un agent biologique des groupes 3 ou 4	L2
	soupçon d'infection par un agent biologique des groupes 3 ou 4	L3 ou L4

Tableau 2 : Confinement recommandé selon l'origine des cellules en culture (d'après l'Inserm)

- Quand on est en **lignée**, la lignée est une cellule qui est capable de se diviser de façon illimitée, ce sont des cellules que l'on a immortalisées.

On se pose les mêmes questions, quelle est l'*origine* des tissus, quel est le *type* de cellules, puis aller plus loin, quel est le **mode d'immortalisation** ?

Pour faire des lignées immortelles, il existe deux façons.

- Soit elle se font spontanément, naturellement.
- Soit, on modifie un gène, on introduit un oncogène qui va rendre les cellules cancéreuses, on va les immortaliser, elles auront donc un pouvoir réplcatif illimité,
- Soit on les a immortalisées avec un virus (attention, quel virus et quelle classe ?)
- Soit avec un produit chimique (cf. risques chimiques)

Il est difficile de définir le risque, mais il faut tout de même le faire pour pouvoir adapter ensuite le travail.

Quand on manipule des cellules, il faut donc s'interroger sur :

- l'origine
- la nature
- le type (lignée primaire ou non)
- le mode d'immortalisation.

On va classer nos cellules en 4 classes et travailler dans un laboratoire M1, M2, M3 ou M4.



Beaucoup de laboratoire travaillent avec des cellules achetées dans le commerce, par des fournisseurs qui sont agréés (exemple ATCC qui est une société américaine et ECACC qui en est une européenne)

Quand on achète des **cellules chez un fournisseur**, il y a un **catalogue** qui répertorie les espèces, les agents pathogènes, et qui indiquent en quelle classe elles doivent être travaillées, le statut des cellules et toutes les informations qui s'ensuivent. Par exemple, les cellules de rein sont classées en 1.

*L'achat de cellules n'est pas ouvert au public, il faut un numéro, travailler dans un laboratoire...*

C'est plus compliqué si on travaille sur des lignées. Beaucoup de laboratoires font leur propre lignée. Ils vont modifier ou immortaliser la cellule pour la rendre sans expression ou surexprimée. Si on travaille avec des lignées de cellules humaines ou primates on travaillera en classe 1 ou 2.

Forcément si on travaille avec un agent pathogène qui nécessite d'être travaillé en classe 3, alors qu'on dispose d'une cellule humaine qui normalement est travaillée en 2, c'est bien évidemment **le niveau le plus fort qui conditionne le niveau de travail**.

Quand ce sont des cellules **tumorales**, des cellules **immortalisées**, ou des virus transformants on travaille **minimum en niveau 2**.  
*On ne travaille pas avec des sommes.*

On ne s'arrête pas là quand on fait de la **culture cellulaire**, une cellule est un organisme vivant qui a besoin de **protéines**, d'**acides aminés**, qui a besoin d'un milieu biologique (d'origine humaine, animale) et de vivre en dehors d'un organisme.

Pour manipuler des cellules, on ne mélange **plus avec une seringue**, maintenant on prend une **pipette PASTEUR**.

On a relevé des gestes à risque, de part justement des problèmes auxquels on était confrontés avec du matériel qu'on utilisait. On travaille rarement avec du verre mais beaucoup sur du **plastique**.

Il faudra aussi gérer des déchets :

On a un **milieu de culture**, on a du **liquide**, du **solide**, les **boîtes de Pétri** dans lequel sont les cellules sont en plastique mais ce ne sont **pas des déchets banaux** car ils ont été en contact avec du vivant ce sont donc des **déchets biologiques** (quand on a du déchet solide, on le place dans un sac ou un carton, quand c'est du verre, ou solide tranchant on le met dans une tirelire etc ... (cf ED)

*Selon le type de matériel, on adapte les déchets au milieu.*

### C. Liés à la manipulation des OGM

Comme on va crescendo, nous passons aux risques spécifiques (c'est à dire en plus de l'agent pathogène), concernant les OGM.

Un **OGM** peut être une **plante**, une **cellule** ou un **animal**. Donc si c'est un animal, il y a toujours les mêmes problèmes cités précédemment à savoir morsures, allergies....

Dans le cas d'OGM, on travaillera en serre **S1, S2, S3 et S4**. Les **L4, A4, S4 restent exceptionnels** et sont très verrouillés (intervention de l'Etat et de l'armée).

On imagine que pour évaluer le risque, cela sera très compliqué, car c'est un Organisme Génétiquement Modifié, de façon à ce que la transformation ne soit pas naturelle.

- Si on a dû **immortaliser** la cellule, ce n'est **pas un OGM**.
- Si on a dû **transformer** pour exprimer une protéine différente, ça en devient **une**.

On va **modifier** le gène d'un animal qui provient d'un **autre organisme**.

*On prend l'exemple schématique d'une tomate sensible au froid.*

On prend un poisson qui se développe en Antarctique. On isole chez lui un gène qui lui permet de résister au froid.

On l'insère dans un organisme receveur, mais avant de l'insérer, on l'amplifie et on le met dans un plasmide qui est généralement un virus et on fait donc un organisme génétiquement modifié, c'est à dire que l'organisme recombinant n'est peut être pas le même.

Il faut donc se poser toutes les questions à ce niveau là au niveau du receveur et de l'état final.

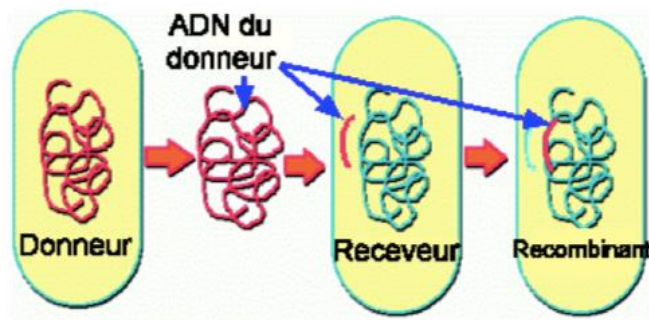
C'est donc très compliqué de savoir par qui, quoi peut on être contaminé.

Il faut savoir quel est l'**organisme donneur** et il faut voir quel est le **matériel introduit**, c'est à dire l'**insert** (par exemple un gène ou une séquence).

On se sert d'un vecteur, en général un **virus**, un **plasmide**, qui va permettre une **multiplication intense de la séquence**.

On va le mettre dans un **organisme donneur**, et on se posera les mêmes questions au niveau de l'organisme donneur et de plus rien ne nous dit que le système récepteur n'entraîne pas l'apparition d'une protéine.

Modification par transfert d'un gène  
d'un organisme à l'autre.



Pour évaluer le risque d'un OGM c'est impossible et pourtant il faut le faire petit à petit, quel est le risque **apporté par l'hôte** (les agents pathogènes, si c'est un animal ou un homme), par l'insert, le risque apporté si on est un vecteur, il ne faut pas faire la somme.

- ✓ Organisme donneur
- ✓ Matériel introduit = insert (ADN, gène, séquence de gène)
- ✓ Vecteur (plasmide, phage, vecteur viral)
- ✓ Organisme receveur = hôte
- ✓ Système vecteur/récepteur hôte

Classe de l'insert	Vecteur	Hôte ou étape	Confinement
Banque cDNA ou génomique	Plasmide ou bactériophage	Création, screening ; dans E coli	L2
		clonage et caractérisation d'une séquence isolée ; dans E coli	L2
séquence bien caractérisée		E coli	L1
A ou B	Plasmide	E coli	L1
		Levure	L1
		Culture primaire humaine ou simienne	L2
		Autre culture primaire	L1
		Lignée commercialisée	L1 ou L2 selon la lignée
		Lignée non commercialisée	L2
A	Baculovirus	cellules d'insecte	L1
B		cellules d'insecte	L2 (cas par cas)
A ou B		si promoteur permettant une expression dans d'autres cellules que celles d'insecte	L2 (cas par cas)
A ou B	Rétroviral (MuLV) écotrope	E coli	L1
		Production des particules virales	L1 (1)
		Transduction de cellules	L1 ou L2 selon cellule
		Manipulation de cellules transduites	L1 ou L2 selon cellule (2)
		Injection de virus sur animal	L1
		Greffe de cellules transduites sur animal	L1
A	Rétroviral (MuLV) amphotrope	E coli	L1
		Production des particules virales	L2
		Transduction de cellules	L2
		Manipulation de cellules transduites	L1 ou L2 selon cellule (3)
		Injection de virus sur animal	L1, injection sous PSM, A1
		Greffe de cellules transduites sur animal	L1
B	Rétroviral (MuLV) amphotrope	E coli	L1
		Production des particules virales	L3
		Transduction de cellules	L2
		Manipulation de cellules transduites	L2
		Injection de virus sur animal	L2, A2
		Greffe de cellules transduites sur animal	A1
A	Lentiviral (SIN ou pas)	E coli	L1
		Production des particules virales	L2

Ensuite, il ne faut **pas qu'il y ait une dissémination des graines**, il ne faut pas qu'un insecte viennent **butiner** une plante génétiquement modifié et encore une fois il va falloir encore **gérer les déchets**.

Quand on veut travailler avec un OGM, il faut faire une **demande d'autorisation de travail**, il faut que la **HAS** intervienne et donne son autorisation. Il faut également **faire une demande auprès du haut conseil aux biotechnologies**.

Il viendra vérifier le **niveau de confinement** et le **laboratoire pour éviter la diffusion** du transfère.

## En plus pour les OGM

	Correspondance Groupe de danger et Agent pathogène			
	non pathogènes	pathogènes		
<i>Selon l'ancienne nomenclature</i>	GI	GII		
<i>Selon le Code de l'environnement</i>	GI	GII	GIII	GIV
<i>Agents pathogènes pour l'Homme</i>	G1	G2	G3	G4
<i>Agents pathogènes pour les Animaux</i>	G1	G2 (Ea1)	G3 (Ea2)	G4 (Ea3)
<i>Agents pathogènes pour les Végétaux</i>	G1	G2 (Ep1)	G3 (Ep2)	G4 (Ep3)
<b>Classes de confinement des OGM</b>	C1	C2	C3	C4

Pour les cellules, il y a peu de soucis sur la contamination.

Contrairement aux végétaux qui peuvent connaître une **dissémination** par les **insectes**, par le **vent** et aux **animaux** qui ne doivent **pas s'échapper** (il faut que ce soit complètement isolé). *C'est une réelle contrainte technique.*

Il faut prendre **consciencés des risques**, *sans bloquer le travail*. Il faut se poser les simples questions **QUI, QUOI, COMMENT**.

Il faut faire **attention aux risques de manipulation et aux déchets**.

Il faut également penser à **désinfecter les paillasse de travail**.

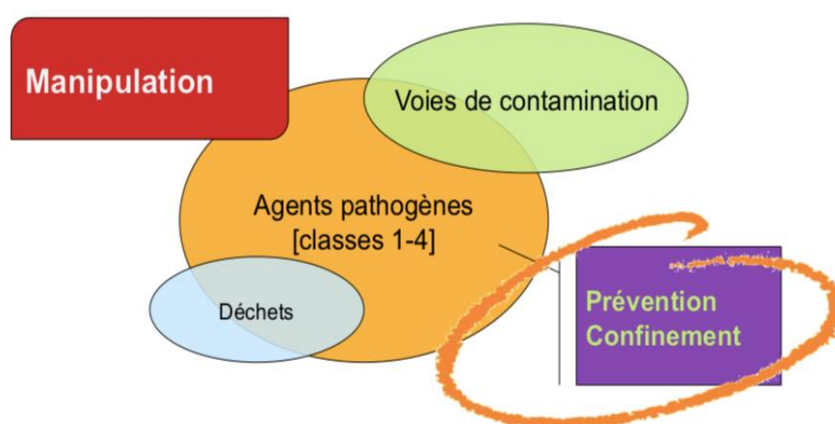
Le tout c'est de bien définir le **niveau de confinement** (*individuel, collectif, organisationnel*) ainsi que la **gestion des déchets**.

- ✓ **Protection collective (locaux)**
- ✓ **Niveaux de confinement**
- ✓ **Organisation du travail**
- ✓ **Individuelle**
- ✓ **Auto prélèvement interdit**
- ✓ **Gestion des déchets**

PROTECTION	EPI	AGENT BIOLOGIQUE		
		Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3
Corps	Blouse en coton	✓		
	Blouse en matériau non tissé		✓	
	Blouse en matériau non tissé Norme EN 14126 : 2004		✓	✓
	Surchaussures		✓	✓
	Charlotte		✓	✓
Mains	Gants EPI de catégorie III		✓	✓
Yeux et visage	Lunette ou masque	✓	✓	✓
Voies respiratoires	Masque FFP1 ou filtre P1	✓		
	Masque FFP2 ou filtre P2		✓	
	Masque FFP3 ou filtre P3			✓

**Tableau 9**  
Récapitulatif des EPI à porter en fonction des agents biologiques manipulés

\* Selon les résultats de l'évaluation des risques



*Analogie avec le chemin d'embûches pour aller d'un point A à un point B pour illustrer le fait qu'on doit faire attention, pour illustrer les niveaux de confinement et de précaution. Nous sommes conscients du danger, mais tout est fait pour être sécurisé (gestes de bases d'hygiène, de sécurité, et de prévention) et de savoir évaluer le risque.*