
**Principes de l'évaluation des risques liés à une utilisation
confinée d'OGM**

-

**Présentation de la démarche d'auto-évaluation préalable à
une utilisation de risque nul ou négligeable dans une
installation agréée**

CEUCO - Cellule OGM – 20 avril 2022

Préface

Vous trouverez ci-après un texte rédigé pour vous guider dans le dépôt de demande de manipulation d'OGM. Ce court, dense mais clair texte est nécessaire pour une prise en compte optimale de plusieurs changements réglementaires récemment apparus. L'un des objectifs recherchés par ces aménagements était la simplification des démarches. Source de gain de temps, d'amélioration de la qualité des interactions et d'adhésion aux obligations réglementaires, la simplification ne doit cependant pas se produire, en matière de risque biologique, au détriment des mesures de protection des manipulateurs et de l'environnement lors des expérimentations. L'utilisation de locaux en adéquation au groupe de risque des organismes manipulés reste donc l'objectif principal des textes qui encadrent les pratiques de recherche.

Ce cadre simplifié mérite d'être explicité, les équipes déposantes devant comprendre le principe du classement et les points à considérer pour une analyse au cas par cas des questions propres à leurs travaux. De plus, la nouveauté associée au fait que les dossiers qui relèvent d'une classe de risque de niveau 1 (C1) ne nécessitent pas d'autres démarches de dépôt que l'agrément d'installation et la conservation d'une archive des constructions présentes au laboratoire, ne peut être mise en œuvre qu'avec la garantie d'une bonne évaluation des expérimentations. Comme cette évaluation ne fera pas nécessairement l'objet d'un regard externe, il est important que les équipes de recherche puissent s'autoévaluer sans risque d'erreur. C'est l'objet de ce document. Mais comme souvent, le simple n'est pas le plus évident à exposer, surtout lorsqu'il s'applique à plusieurs champs disciplinaires et qu'il concerne une grande diversité de pratiques. Il a donc fallu conjuguer les expertises et les expériences pour rédiger un texte intelligible par tous. Ce travail de précision et de clarification a été mené par des membres¹ du comité scientifique du HCB, puis a subi une phase expérimentale auprès d'utilisateurs « naïfs ». Remercions-les de leur travail, aussi gracieux que précis. Enfin, la cellule OGM² lui a donné la présente forme, qui, je le pense, saura répondre aux attentes des équipes.

Pr Jean-Christophe Pagès

Président du Comité d'expertise des utilisations confinées d'OGM

¹ Elie Dassa, Didier Lereclus, Claudine France, Philippe Guerche, Nadia Naffakh, Bernard Klonjkowski & Hubert de Verneuil.

² L'homogénéité du texte final résulte du travail de synthèse de Laure Aymé.

Introduction

Vous souhaitez entreprendre des expérimentations impliquant une utilisation confinée d'organismes génétiquement modifiés (OGM), vous devez avoir pris connaissance des textes réglementaires listés ci-après :

- [Directive 2009/41/CE](#) et sa transposition en droit français (articles [L.531-1 à L.537-1](#) et [D.531-1 à R.536-11](#) du code de l'environnement) ;
- [Arrêté du 25 janvier 2022](#) ;
- [Directive 2000/54/CE](#) et [Arrêté du 16 juillet 2007](#) si l'utilisation implique des agents biologiques pathogènes ;
- Articles [L.5139-1 à L.5139-3](#) et [R.5139-1 à R.5139-31](#) du code de la santé publique et [l'arrêté du 23 janvier 2013](#) si l'utilisation implique des microorganismes et toxines (MOT)

Définitions :

Est considéré OGM tout organisme dont le matériel génétique a été modifié autrement que par multiplication ou recombinaison naturelles (article L. 531-1 du code de l'environnement), ceci incluant les organismes obtenus par mutagenèse dirigée (ZFN, TALEN, ODM, CRISPR...) selon l'arrêt du 25 juillet 2018 de la Cour de justice de l'Union européenne.

Les OGM sont classés en fonction des risques qu'ils pourraient présenter pour la santé publique ou l'environnement (groupe I à IV, article D. 532-2 du code de l'environnement).

Une utilisation d'OGM est définie comme toute opération ou ensemble d'opérations au cours desquelles des organismes sont génétiquement modifiés ou au cours desquelles des OGM sont cultivés, stockés, éliminés ou mis en œuvre ³ (article L. 531-1 du code de l'environnement). L'utilisation confinée d'OGM des groupes I à IV est respectivement associée à une classe de confinement 1 à 4 (C1 à C4).

Avant toute expérimentation, le directeur des travaux de recherche a la responsabilité de conduire une analyse préalable des risques que présentent les utilisations qu'il souhaite mener.

L'utilisation confinée d'OGM correspondant à :

- la classe de confinement 2 à 4 (risque faible à élevé) est soumise à autorisation. Préalablement à toute utilisation, un avis du Comité d'expertise des utilisations confinées d'OGM (CEUCO placé auprès ministère de l'enseignement supérieur, de la recherche et de l'innovation (MESRI)) est requis.
- la classe de confinement 1 (risque nul ou négligeable) est soumise à déclaration. Dès validation par le MESRI du dossier transmis, un récépissé est délivré. Les déclarations pourront toutefois faire l'objet d'une évaluation par le CEUCO.

Depuis le 1^{er} janvier 2022, toute installation (laboratoire, animalerie ou serre) où sont utilisés

³ Analyse moléculaire ou analyse de composition.

des OGM doit être agréée. L'agrément, délivré par le MESRI, est valide pendant 5 ans (se référer à la notice des formulaires de demande d'agrément téléchargeable sur la page d'accueil de la [plateforme DUO](#)). La mise en œuvre des utilisations dans une installation agréée pourra faire l'objet de contrôles par des inspecteurs assermentés du MESRI. Les modalités d'obtention de cet agrément varient en fonction du niveau de confinement des utilisations mises en œuvre dans l'installation concernée :

- pour une utilisation C2 à C4 : l'agrément d'installation est validé lorsqu'une autorisation d'utilisation est délivrée après avis du CEUCO ;
- pour une utilisation C1 : l'agrément s'obtient suite à une déclaration d'utilisation pour laquelle le MESRI délivre un récépissé.

Dans une installation ayant été agréée pour une utilisation C2 à C4, toute demande ultérieure d'utilisation de classe 2 est soumise à déclaration.

Dans une installation ayant été agréée pour une utilisation C1 à C4, toute utilisation ultérieure de classe 1 n'est plus soumise à déclaration mais doit faire l'objet d'une auto-évaluation (cf. 1.3 ci-dessous).

Le tableau ci-dessous récapitule la procédure à suivre pour toute demande d'utilisation d'OGM depuis le 1^{er} janvier 2022 :

Classe de confinement de l'utilisation	Première demande ⁴		Demande ultérieure ⁵	
	Utilisation	Installation	Utilisation	Installation
Classe 1	Déclaration à déposer sur la plateforme DUO	Demande d'agrément de <u>classe 1</u> ⁶ à envoyer par mail	Auto-évaluation selon le modèle donné (Cf. 1.3 ci-dessous) ⁷	Préciser la référence de l'agrément d'installation (classe 1 ou supérieure)
Classe 2	Demande d'autorisation à déposer sur la plateforme DUO	Demande d'agrément de <u>classe 2</u> ⁶ à envoyer par mail	Déclaration à déposer sur la plateforme DUO	Préciser la référence de l'agrément d'installation (classe 2 ou supérieure)
Classe 3	Demande d'autorisation à déposer sur la plateforme DUO	Demande d'agrément de <u>classe 3</u> ⁶ à envoyer par mail	Demande d'autorisation à déposer sur la plateforme DUO	Préciser la référence de l'agrément d'installation (classe 3 ou supérieure)
Classe 4	Demande d'autorisation à déposer sur la plateforme DUO	Prendre contact avec la cellule OGM	Demande d'autorisation à déposer sur la plateforme DUO	Préciser la référence de l'agrément d'installation (classe 4)

⁴ Depuis le 1^{er} janvier 2022, toute demande d'utilisation initiale doit être accompagnée d'une demande d'agrément pour la/les installation(s) dans laquelle l'utilisation sera mise en œuvre.

⁵ Toute nouvelle demande d'utilisation dans une installation agréée de niveau de confinement équivalent ou supérieur à celui de l'utilisation projetée. A l'issue de sa période de validité (5 ans), un agrément peut être renouvelé indépendamment d'une demande d'utilisation.

⁶ Chaque installation doit présenter un niveau de confinement au moins équivalent à celui de l'utilisation s'y déroulant. L'autorisation, délivrée après avis du CEUCO, ou le récépissé de déclaration vaut agrément de l'installation pour la classe de confinement mentionnée dans l'autorisation ou la déclaration et, le cas échéant, pour les classes de niveau inférieur.

⁷ L'auto-évaluation est à présenter sur demande de l'autorité compétente.

1. Evaluation des risques liés à une utilisation confinée d'OGM

Le directeur des travaux de recherche doit, en connaissance de cause, se conformer aux exigences réglementaires, il se référera : aux textes réglementaires listés plus haut, aux listes de données de classement des pathogènes et des organismes de quarantaine⁸, aux tableaux de référence pour l'aide au classement (en annexes) et aux formulaires de demande d'utilisation d'OGM fournis par le MESRI (disponibles sur la page d'accueil de la [plateforme DUO](#)).

Les organismes pathogènes sont classés par groupe de risque. Lorsqu'ils sont étudiés à l'état sauvage et en laboratoire, en dehors de toute manipulation génétique, leur groupe de risque détermine directement la classe des locaux dans lesquels ils doivent être manipulés. S'ils sont génétiquement modifiés⁹, la classe de manipulation peut être différente, augmentée si la modification augmente les risques associés, ou diminuée en cas d'atténuation.

Si des hôtes intermédiaires sont produits (p. ex. plasmide recombinant propagé en *E. coli* avant transfection de cellules primaires humaines ; *E. coli* est l'hôte intermédiaire et les cellules primaires humaines constituent l'OGM final), ils peuvent présenter des niveaux de risques différents, et dans ce cas il est nécessaire de classer séparément les différentes phases des expérimentations (p. ex. C2 pour la transfection des cellules primaires humaines et C1 pour la propagation des plasmides en bactérie).

L'ensemble des mesures de confinement associées à une utilisation d'OGM vise à la protection du manipulateur et de l'environnement, selon les bonnes pratiques, en dehors de conditions dégradées et d'accident. Un programme de gestion des accidents est toutefois demandé pour les installations permettant d'assurer un confinement de classe 3 ou 4 pour lesquels des plans d'urgence sont préétablis.

Afin d'adapter les conditions de travail à une utilisation donnée, il est nécessaire de tenir compte d'un ensemble d'éléments pour construire une évaluation du risque. La combinaison de ces éléments permettra de déterminer le groupe de risque des OGM produits à chaque étape d'un projet (OGM final, hôtes intermédiaires...). Avant de commencer une expérimentation impliquant des OGM, le directeur des travaux de recherche doit prendre en compte :

- le groupe de risque de l'organisme receveur, il est donné par les catalogues des collections pour les lignées cellulaires, il correspond au groupe de risque des listes¹⁰ s'il s'agit d'un pathogène ;

⁸ Les pathogènes ou organismes de quarantaine peuvent être génétiquement modifiés ou être source de transgènes.

⁹ Pour certains pathogènes, il est possible d'obtenir des variants indépendamment d'une manipulation par génie génétique. Ces organismes sortent du champ d'application des OGM.

¹⁰ Se référer aux annexes II.2 à II.4 du *Manuel du HCB pour l'utilisation confinée d'OGM*, version du 4 juillet 2019, pages 28-162 ; à l'[arrêté du 16 novembre 2021 fixant la liste des agents biologiques pathogènes](#) ; à la liste des pathogènes et aux groupes de risque qui leur sont associés sur le site web <https://www.biosafety.be/content/tools-belgian-classification-micro-organisms-based-their-biological-risks> ; aux règles techniques relatives aux agents biologiques (TRBA 460 à 468) du site web (en allemand) <https://www.baua.de/DE/Angebote/Rechtstexte-und-Technische-Regeln/Regelwerk/TRBA/TRBA.html>.

- toutes les séquences modifiées lors de l'étude (ajout, retrait, inactivation de gène, modification de séquences de régulation de gènes de l'organisme...);
- les outils utilisés [vecteurs viraux, plasmides bactériens, complexes moléculaires (p. ex. RNP, liposome) ...], les éventuels effets non souhaités qui leur sont associés et les conditions de manipulation requises. Par exemple, certains vecteurs sont classés C2 pour leur production, alors que les organismes qu'ils auront permis de modifier pourront être classés C1 ;
- tous les effets qui contribueraient à modifier le phénotype résultant des manipulations pour les OGM obtenus (p. ex. changement de tropisme d'un virus), qu'ils soient l'OGM final ou des intermédiaires ;
- des spécificités de classement parfois nécessaires selon les types d'organisme et les modifications réalisées. Par exemple :
 - o Y a-t-il production/génération d'aérosols pour des virus respiratoires ?
 - o Y a-t-il libération de graines dans les veines liquides/effluents (arrosage, évacuation) pour des plantes ?
 - o Y a-t-il présence d'un vecteur tellurique ou aérien (détermination des mailles des filets anti-insectes (« insect proof ») en fonction de la taille des individus ailés ou à déplacement éolien (p. ex. larves de cochenilles)) pour des pathogènes à transmission vectorielle ?

1.1. Votre installation¹¹ dispose-t-elle d'un agrément d'installation de niveau 1, 2, 3 ou 4 ?

Avant le 1^{er} janvier 2022, l'agrément d'installation n'existait pas. Il est donc nécessaire d'en faire la demande pour toute nouvelle utilisation confinée d'OGM, y compris si les installations concernées ont déjà fait l'objet d'une description lors d'une demande d'utilisation d'OGM antérieure au 1^{er} janvier 2022. Les autorisations et récépissés délivrés préalablement restent valides jusqu'à leur date d'expiration.

Si Oui : aller au point 1.2 ou 1.3

Sinon : déposer une demande d'agrément d'installation qui accompagnera la première déclaration ou demande d'autorisation d'utilisation d'OGM. Les notices et formulaires à compléter sont accessibles sur le page d'accueil de la [plateforme DUO](#) dédiée au dépôt des dossiers de demande d'utilisation d'OGM en milieu confiné.

1.2. Vous souhaitez entreprendre des utilisations d'OGM des classes 2, 3, ou 4 dans une installation agréée

Dans une installation agréée pour une utilisation de classe 2 ou supérieure, toute utilisation ultérieure de classe 2 sera soumise à déclaration. Toute utilisation confinée d'OGM des classes 3 ou 4 doit systématiquement faire l'objet d'une demande d'autorisation.

¹¹ Installation : En règle générale les installations sont des laboratoires ; des animaleries y compris aquariums et insectariums ; des serres et locaux de culture pour le végétal. Des installations peuvent aussi inclure ou être constituées de plates-formes de recherche (imagerie par exemple), qui doivent aussi être agréées pour l'utilisation d'OGM. Une « installation » désigne un ensemble cohérent qui dépend d'une même autorité ou responsabilité juridique et qui, sur le plan technique, peut être géré et contrôlé de manière homogène. Une installation peut être constituée de plusieurs salles d'activité technique disposant des mêmes caractéristiques de confinement, situées sur un site géographique unique.

1.3. Vous souhaitez entreprendre des expérimentations d'OGM de classe 1 dans une installation agréée

Après avoir reçu un agrément d'installation, toute utilisation confinée ultérieure de classe 1 pourra être entreprise, dans l'installation agréée, sans nouvelle déclaration. **La classe de confinement 1 devra être confirmée par une auto-évaluation dont vous devez montrer qu'elle a bien été réalisée. L'ensemble des OGM utilisés sera consigné dans un tableau qui devra prendre la forme du modèle donné. Veuillez lire les instructions figurant au point 2 ci-dessous. La liste des OGM sera exhaustive et constituera une preuve de l'auto-évaluation. La liste pourra être vérifiée à l'occasion d'une inspection. Son adéquation avec les registres du laboratoire fera l'objet d'une vérification.**

L'auto-évaluation consiste à déterminer si l'utilisation confinée d'OGM que vous envisagez appartient bien à la classe 1.

Des **tableaux de référence pour l'aide au classement** (consulter les annexes) ont été préparés pour permettre d'identifier la classe de confinement adaptée à votre utilisation de microorganismes¹², parasites, cellules eucaryotes, animaux, plantes/cellules végétales, virus/viroïdes réplicatifs ou vecteurs viraux non réplicatifs (défectifs). Chaque tableau est propre à la nature de l'OGM final.

Si vous pensez que le classement adapté à votre utilisation est C1 mais qu'aucune des situations décrites dans les tableaux de référence pour ce niveau de confinement ne correspond à la vôtre, il est nécessaire de remplir une demande d'utilisation et d'y joindre un argumentaire.

2. Auto-évaluation des utilisations d'OGM de classe 1

Vous trouverez ci-après les en-têtes de colonnes du tableau d'auto-évaluation. Les informations qui sont attendues pour chaque ligne du tableau sont en partie détaillées dans le texte qui suit.

Chaque ligne doit contenir la description d'un OGM, résultat de l'association d'un organisme avec un/des système(s) de transfert d'information génétique, vecteur/outil, insert(s) ou gène(s) édité(s)¹³.

Utilisation : Définir le contexte de l'utilisation : recherche, enseignement, stockage, prestation de service.

Organisme : Préciser la nature de l'OGM produit (microorganisme, cellules eucaryotes, parasites, animaux, plantes ou cellules végétales, virus réplicatif, vecteurs viraux non réplicatifs).

¹² Microorganisme : toute entité microbiologique, cellulaire ou non, capable de se reproduire ou de transférer du matériel génétique, y compris les virus, les viroïdes et les cultures de cellules végétales et animales. Les microorganismes incluent donc les procaryotes (les bactéries), les Archaea, ainsi que tous les eucaryotes unicellulaires (levures, amibes, apicomplexes, etc.) et tous les virus et viroïdes.

¹³ Le résultat est un OGM quelle que soit l'importance de la modification (paire de base, insertion, délétion, recombinaison, réassortiment...)

Nom taxonomique de l'OGM : Indiquer le nom taxonomique de l'organisme génétiquement modifié. Seuls les organismes atténués des groupes 2 ou 3, après avis obtenu auprès du CEUCO, ou antérieurement auprès du HCB, sont éligibles à un déclassement en C1.

Les OGM procaryotes de groupe 1 produits lors de la construction d'un OGM eucaryote (par exemple *E. coli* K-12 ou B contenant un plasmide à transférer, *Agrobacterium* contenant un vecteur de transformation) doivent être décrits dans les tableaux.

Vecteur et/ou méthode de modification ou de transfert de gène : Indiquer la nature du support génétique des outils/systèmes moléculaires qui vont permettre la modification. Il peut s'agir de plasmides, ou de YAC, HAC, phagemides, phages, transposons conjugatifs, ADN nu intégratif, CRISPR, vecteurs viraux défectifs pour la réplication, mutagenèse dirigée par oligonucléotides...

Insert ou gène édité (nom et type) : Les éditions de gènes sont à déclarer.

Points à considérer concernant les éditions de gènes :

- Pour l'édition des gènes dans les cellules eucaryotes animales, aucune ne conduit à un changement de groupe de la cellule, à l'exception de la réactivation de virus endogènes à tropisme humain, ou à potentiel zoonotique.
- Pour l'édition de gènes chez les organismes pathogènes, qu'ils soient virus, bactéries, champignons ou parasites, un avis du CEUCO est nécessaire. Dans son évaluation, le CEUCO prendra en compte la modification de phénotype induite, atténuation ou augmentation de virulence. Seule une atténuation conduisant à un classement en C1 pourra faire l'objet d'une auto-évaluation lors d'une utilisation ultérieure.
- Pour l'édition de gènes de cellules de plantes en culture *in vitro*, il n'y a pas de modification de classement. Les plantes éditées (et leur descendance) doivent être cultivées en C2 au minimum ; elles ne peuvent donc pas faire l'objet d'une auto-évaluation.
- Attention : dans certains cas, l'édition des génomes utilise des vecteurs pour transférer le système d'édition (vecteurs viraux d'expression de CRISPR et ARNg...). Selon leurs caractéristiques, la production des vecteurs et la transduction des cellules doivent faire l'objet d'une déclaration ou d'une demande d'autorisation si ces utilisations sont égales ou supérieures à 2. Les systèmes non viraux (complexes RNP, ARN...) ne sont pas à déclarer, ce ne sont pas des OGM, seuls sont à déclarer les organismes cibles.

Pour les opérations de transfert de gènes, les transgènes sont de deux types :

- a) **Les inserts de type A** ne sont pas susceptibles d'augmenter le groupe de risque de l'organisme récepteur modifié, ils n'en modifient pas l'invasivité, la persistance ou le pouvoir pathogène.
- b) **Les inserts de type B** sont susceptibles d'augmenter le groupe de risque de l'organisme récepteur, car ils en modifient, par exemple, l'invasivité, la persistance ou le pouvoir pathogène, ou bien sont associés à un risque de développement d'une maladie par un manipulateur exposé.

Quelques exemples d'inserts de type B :

- gène codant un allergène diffusible par aérosol ;
- en microbiologie : gène(s) codant une protéine d'un organisme de groupe > 1 sans homologue caractérisé dans les banques de séquences ; une toxine sous forme active et/ou qui pourrait avoir une fonction délétère, un facteur de virulence qui à lui seul peut rendre l'organisme hôte pathogène ;
- en biologie animale : un oncogène ou facteur transformant, seuls les gènes de type « Driver » rentrent dans cette catégorie ;
- en virologie, les génomes complets de virus des groupes 2, 3 ou 4 ;
- les gènes des agents transmissibles non conventionnels sont de type B lorsqu'ils codent une protéine très susceptible de se transconformer en sa forme pathologique (p. ex. PrP^{Sc}) de manière spontanée. Se référer à l'Annexe II.5 du *Manuel du HCB pour l'utilisation confinée d'OGM*, version révisée du 4 juillet 2019.

Modulation possible des exemples cités ci-dessus :

Pour les microorganismes, si un facteur de virulence isolé de son contexte naturel, cloné dans un microorganisme de groupe 1, ne modifie pas le pouvoir pathogène et la classe de confinement de l'hôte, alors ce dernier peut être manipulé en C1.

L'hôte définitif d'un transgène de type B peut ne pas être modifié dans sa classe de risque initiale. Par exemple : une cellule animale relevant de C1, modifiée par l'expression d'un oncogène de type B transféré par un vecteur viral défectif, reste C1.

En revanche, un oncogène de type B, un gène codant une protéine à activité transformante, lorsqu'ils sont clonés dans un vecteur, sont susceptibles de modifier la classe de confinement de ce vecteur. Un vecteur rétroviral à tropisme humain qui est le plus souvent produit en C2 pourra être classé C3.

Expression de l'insert ou du gène édité/phénotype induit par l'expression : Indiquer si l'insert est exprimé ou non. L'expression n'est pas toujours requise pour conférer un risque. Par exemple une séquence « *enhancer* » introduite en amont d'un proto-oncogène driver peut conférer un risque de transformation. Inversement, l'expression d'un transgène ne constitue pas nécessairement un facteur de risque. Indiquer si le phénotype induit par l'expression de l'insert ou du gène édité affecte le classement.

Persistance et stabilité de la modification : Selon le mode de transfert et les outils de la modification, celle-ci peut être pérenne ou transitoire. Ce point n'est pas toujours déterminant dans le classement, mais il est utile à préciser pour le suivi des organismes modifiés, les modifications transitoires sortant du champ des OGM lorsque l'élément portant la modification transitoire n'est plus présent ¹⁴ (p. ex. *Agrobacterium* pour une agroinfiltration).

Présence d'un système de sélection : Si oui, indiquer lequel. Les systèmes de sélection sont utiles pour définir les mesures d'élimination des OGM, en cas de nécessité.

¹⁴ Ceci ne comprend pas les ségréants négatifs pour lesquels le statut juridique est en cours de discussion à l'échelle européenne.

Classe de manipulation requise : Déterminer si l'insert ou la modification de l'hôte sont susceptibles d'affecter la classe de confinement de l'OGM considéré. C'est cet élément qui déterminera la classe de risque.

Le tableau d'auto-évaluation sera suffisant seulement si l'analyse précédente conduit à un classement C1. Dans tous les autres cas, une demande d'utilisation d'OGM doit être déposée sur la [plateforme DUO](#).

Demande antérieure de changement de classe de manipulation vers C1 : Si après analyse, vous considérez que l'OGM peut toutefois être déclassé par rapport au classement préconisé par les tableaux en annexes, il est nécessaire de demander un avis du CEUCO lors de la première demande d'utilisation de cet OGM. Vous ne devez donc pas renseigner le tableau d'auto-évaluation mais déposer sur la [plateforme DUO](#) un dossier de demande d'utilisation et y joindre un argumentaire. Lors d'une nouvelle utilisation de ce(t)s OGM, vous rappellerez ici le numéro de référence du dossier DUO pour lequel une expertise du CEUCO a conduit à un déclassé.

Auto-évaluation du risque pour des utilisations de plantes et cellules végétales

Vous trouverez ci-dessous des précisions sur les informations à fournir pour chaque colonne du tableau d'auto-évaluation pour des utilisations de plantes et cellules végétales.

Colonne « Nom taxonomique de l'OGM » :

Lors de la manipulation de microorganismes phytopathogènes (champignons, bactéries ou virus) transgéniques ou édités ayant pour hôtes des végétaux transgéniques, édités ou non, il est nécessaire de décrire les microorganismes utilisés pour obtenir les pathogènes et, le cas échéant, les végétaux transgéniques ou édités (*E. coli* et *Agrobacterium*...).

Colonne « Vecteur et/ou méthode de modification ou de transfert de gène » :

Les méthodes de transformation utilisées :

- Via *Agrobacterium spp* (transformation stable), agroinfiltration (transformation transitoire), agroinfection (infections virales par des séquences virales sous le contrôle de promoteurs constitutifs, 35S par exemple).
- Transfert direct de gène : canon à particules, PEG, électroporation, ...
- Si des microorganismes ont été manipulés pour obtenir le matériel végétal transgénique (*E. coli* et *Agrobacterium*...), il est nécessaire de les décrire dans le tableau.

Colonne « Expression de l'insert ou du gène édité/phénotype induit par l'expression » :

Évaluer si l'expression de l'insert ou du gène édité induit un changement de classe de l'OGM.

Indiquer si le gène inséré ou modifié induit un phénotype, même s'il est transitoire (VIGS par exemple), nécessitant un changement de classe (pathogénicité modifiée, changement d'hôte, d'espèce, de vecteur, toxicité, acquisition de caractère invasif, etc.).

Colonne « Classe de manipulation requise » :

Les manipulations génétiques visant à l'obtention de végétaux transgéniques ou édités nécessitent au minimum l'utilisation de laboratoires C1 et de serres ou phytotrons C2. La culture de plantes transgéniques ou éditées en serre ou phytotron ne peut donc pas faire l'objet d'une auto-évaluation.

Colonne « Demande antérieure de changement de classe de manipulation vers C1 » :

En fonction des organismes étudiés, des phénotypes induits par les modifications génétiques (y compris sur la spécificité vectrice) et des conditions de culture de ces organismes et de la présence dans l'environnement (virome, analyses métagénomiques...) des mutations et recombinaisons reproduites en expression *in vitro*, il est possible de demander un déclassement ou un surclassement (p. ex. déclassement de C2 en C1 lors du phénotypage, à des stades avant floraison, du système racinaire ou aérien de céréales transgéniques. Dans ce cas exposer les moyens de contrôle d'absence des agrobactéries utilisées pour la modification, dans les graines, les plantes).

Annexes : Tableau de référence pour l'aide au classement

Tableau 1 : classement indicatif des microorganismes¹ génétiquement modifiés

Organisme receveur de(s) (l')insert(s)	Vecteur/Outil de modification	Nature de la modification	Persistance et stabilité de la modification	Présence d'un système de sélection	Type de l'insert ou du gène édité	Expression de l'insert	Classe de manipulation	Possibilité de changement de classe de manipulation
Microorganisme ¹ de groupe 1 ²	Plasmide ou autre (YAC, HAC...), phagemide, phage, transposon conjugatif, ADN nu intégratif, CRISPR, mutagenèse dirigée par oligonucléotides	Addition, duplication, remplacement, modification, délétion ³	Oui ou non ou inconnue	Oui ou non	Type A ⁴	Oui ou non	C1	Non pertinent
		Addition de séquences d'ADN ³	Oui ou non ou inconnue	Oui ou non	Type B ⁵	Oui ou non	C2 ou C3 selon la fonction et l'expression de l'insert	Un déclassement nécessite un avis du CEUCO
					Type B ⁵ : cas du génome complet d'organisme pathogène	Oui ou non	C2 à C4 selon le groupe de risque du pathogène	Un déclassement nécessite un avis du CEUCO
					issu d'un MOT ⁶	Oui ou non	C1 à C4 selon la fonction et l'expression de l'insert	Un déclassement nécessite un avis du CEUCO
Microorganisme ¹ des groupes 2 ou 3 ²	Plasmide ou autre (YAC, HAC...), phagemide, phage, transposon conjugatif, ADN nu intégratif, CRISPR, mutagenèse dirigée par oligonucléotides	Addition, duplication, remplacement, modification, délétion ³	Oui ou non ou inconnue	Oui ou non	Type A ⁴	Oui ou non	C2 ou C3 selon le groupe de risque du microorganisme receveur ²	Un déclassement nécessite un avis du CEUCO
					Type B ⁵ ou MOT ⁶	Oui ou non	C2 à C4 selon le groupe de risque du microorganisme ² et la fonction et l'expression de l'insert	Un déclassement nécessite un avis du CEUCO

¹ Les microorganismes suivants sont considérés dans ce tableau : bactérie, levure, champignon unicellulaire et leurs virus, à l'exclusion des virus à tropisme humain, animal ou végétal. Le cas échéant, consulter les tableaux 2, 3, 5, 6 et 7 concernant les autres microorganismes définis page 5.

² Voir les annexes II.2 à II.4 du *Manuel du HCB pour l'utilisation confinée d'OGM*, version révisée du 4 juillet 2019, et les tableaux des groupes d'organismes incluant les organismes de groupe 1 (TRBA 460 à 468 : <<https://www.baua.de/DE/Angebote/Rechtstexte-und-Technische-Regeln/Regelwerk/TRBA/TRBA.html>>). Il faut considérer la question de la multirésistance des bactéries de groupe 3 pour un éventuel classement en groupe 4.

³ Séquences codantes et/ou éléments de contrôle de leur expression.

⁴ **Insert de type A** : Toute séquence d'ADN dont le transfert ne comporte pas de risque d'augmenter le pouvoir pathogène du microorganisme récepteur.

⁵ **Insert de type B** : Toute séquence susceptibles de modifier l'invasivité, la persistance ou le pouvoir pathogène de l'organisme récepteur (cf. annexe II.5 du *Manuel du HCB pour l'utilisation confinée d'OGM*, version révisée du 4 juillet 2019) ou séquence codant :

- une protéine d'un organisme de groupe > 1, sans homologue caractérisé dans les banques de séquences (déclassement possible après caractérisation) ;
- une toxine sous forme active et/ou qui pourrait avoir une fonction délétère ;
- un allergène diffusible par aérosol ;
- un facteur alors dit « de virulence » qui à lui seul peut rendre l'organisme hôte pathogène.

Sont également des inserts de type B les génomes complets de virus de G2, G3 ou G4.

⁶ La manipulation de MOT est réglementée et nécessite une autorisation spécifique auprès de l'ANSM. Une séquence de MOT peut être classée A si elle ne porte aucun déterminant changeant la pathogénicité de la bactérie l'hébergeant, ou qu'elle n'induit pas de toxicité. Une séquence MOT est classée B si elle modifie la pathogénicité de la bactérie l'hébergeant ou si elle peut conduire à la synthèse de molécules conférant une dangerosité à la bactérie (toxine par exemple).

Tableau 2 : classement indicatif pour les cellules eucaryotes (hors plantes) génétiquement modifiées

Organisme receveur de(s) l'insert(s)	Outil de modification	Nature de la modification	Persistence et stabilité de la modification	Présence d'un système de sélection	Type de l'insert ou du gène édité	Expression de l'insert	Classe de manipulation	Possibilité de changement de classe de manipulation
Lignée cellulaire eucaryote de groupe 1 ¹	Transfection plasmide, CRISPR, mutagenèse dirigée par oligonucléotides, vecteurs ou tout système de transfert de séquence ou de modification	Addition, duplication, remplacement, modification, délétion ²	Oui ou non ou inconnue	Oui ou non	Type A ³	Oui ou non	C1	Non pertinent
					Type B ⁴	Oui ou non	C2 ou C3 selon la nature de l'insert et son expression	Un déclassement nécessite un avis du CEUCO
					MOT ⁵	Oui ou non	C2 ou C3 selon la fonction et l'expression du MOT	Un déclassement nécessite un avis du CEUCO
Cellule primaire de primate avant caractérisation ¹ , lignées cellulaires eucaryotes de groupe 2	<i>idem, supra</i>	<i>idem, supra</i>	Oui ou non ou inconnue	Oui ou non	Type A ³ ou B ⁴ hors génome de virus de groupe 3 ou 4	Oui ou non	C2	Un déclassement nécessite un avis du CEUCO
	Véhiculant un génome complet de virus de groupe 2 à 4 ou partiel de virus de groupe 2 à 4 avec complémentation	<i>idem, supra</i>	Oui ou non ou inconnue	Oui ou non	Type B ⁴ ou MOT ⁵ : cas du génome complet de virus de groupe 2 à 4 ou partiel de virus de groupe 2 à 4 avec complémentation	Oui ou non	C2 à C4 selon le groupe de risque du virus génétiquement modifié	Oui selon le pathogène ou la construction. Un déclassement nécessite un avis du CEUCO
Culture primaire ou lignée cellulaire eucaryotes des groupes 3 ou 4 ¹	Transfection plasmide, CRISPR, mutagenèse dirigée par oligonucléotides, vecteurs ou tout système de transfert de séquence ou de modification	<i>idem, supra</i>	Oui ou non ou inconnue	Oui ou non	Type A ³	Oui ou non	C3 à C4 selon le groupe de la lignée cellulaire	Un déclassement nécessite un avis du CEUCO
					Type B ⁴ ou MOT ⁵	Oui ou non	C3 à C4 selon le groupe de la lignée cellulaire et la fonction et l'expression de l'insert	Un déclassement nécessite un avis du CEUCO

¹ Lignée cellulaire : cellules maintenues en culture. Le classement d'une lignée dépend de sa caractérisation pour la présence de virus adventices. Les cellules humaines primaires sont de groupe 2 au minimum. Les cellules primaires ou lignées non humaines sont de groupe 1, à l'exception des cellules hébergeant des pathogènes, zoonotiques en particulier.

² Séquences codantes et/ou éléments de contrôle de leur expression.

³ Insert de type A : Toute séquence d'ADN dont le transfert ne comporte pas de risque d'augmenter le pouvoir pathogène de l'organisme récepteur/receveur.

⁴ Insert de type B : Toute séquence susceptibles de modifier l'invasivité, la persistance ou le pouvoir pathogène de l'organisme récepteur/receveur (voir l'annexe II.5 du Manuel du HCB pour l'utilisation confinée d'OGM, version révisée du 4 juillet 2019) ou une séquence non caractérisée d'un organisme de groupe 2 à 4 (pour les banques de séquençage et les séquences courtes utilisées en diagnostic consulter le CEUCO) ou un gène codant :

- une protéine d'un organisme de groupe 2 à 4, sans homologue caractérisé dans les banques de séquences (déclassement possible après caractérisation),
- une toxine sous forme active,
- un allergène diffusible par aérosol,
- un facteur de virulence d'un organisme des groupes 2 à 4.

Sont également des inserts de type B les génomes complets de virus de groupe 2 à 4.

⁵ La manipulation de MOT est réglementée et nécessite une autorisation spécifique auprès de l'ANSM. Une séquence de MOT peut être classée A si elle ne porte aucun déterminant changeant la pathogénicité de la bactérie l'hébergeant, ou qu'elle n'induit pas de toxicité. Une séquence MOT est classée B si elle modifie la pathogénicité de la bactérie l'hébergeant ou si elle peut conduire à la synthèse de molécules conférant une dangerosité à la bactérie (toxine par exemple).

Tableau 3 : classement indicatif pour les parasites génétiquement modifiés

Organisme receveur de(s) (l')insert(s)	Vecteur/outil de modification	Nature de la modification	Persistance et stabilité de la modification	Présence d'un système de sélection	Type du transgène ou du gène édité	Expression du transgène	Classe de manipulation	Possibilité de changement de classe de manipulation
Parasite n'infectant pas les humains	Tout système non répliatif/défectif	Addition, duplication, remplacement, modification, délétion de séquences d'ADN, y compris séquences régulatrices	Oui ou non	Oui ou non	Type A ou B (hors génome de pathogène de groupe 3 ou 4)	Oui ou non	C1	Non pertinent
Parasite infectant les humains	Tout système, y compris répliatif	Addition, duplication, remplacement, modification, délétion de séquences d'ADN, y compris séquences régulatrices	Oui ou non	Oui ou non	Type A ou B (dont génome de pathogène de groupe 2, 3 ou 4)	Oui ou non	C2 à C3 selon le parasite, le vecteur et la fonction et l'expression de l'insert	Un déclassement nécessite un avis du CEUCO

Tableau 4 : classement indicatif pour les animaux génétiquement modifiés

Organisme receveur de(s) (l')insert(s)	Vecteur/outil de modification	Nature de la modification	Persistance et stabilité de la modification	Présence d'un système de sélection	Type du transgène ou du gène édité	Expression du transgène	Classe de manipulation	Possibilité de changement de classe de manipulation
Animaux	Tout système non répliatif (défectif)	Addition, duplication, remplacement, modification, délétion de séquences d'ADN, y compris séquences régulatrices	Oui ou non	Oui ou non	Type A ou B (hors génome de pathogène de groupe 2 à 4) ¹	Oui ou non	C1	Non pertinent
					Génome de pathogène de groupe 2 à 4 si des particules du pathogène sont produites	Oui ou non	C2 à C4	Un déclassement nécessite un avis du CEUCO
	Tout système répliatif	Addition, duplication, remplacement, modification, délétion de séquences d'ADN, y compris séquences régulatrices	Oui ou non	Oui ou non	Type A ou B (dont génome de pathogène de groupe 2, 3 ou 4)	Oui ou non	C2 à C4	Un déclassement nécessite un avis du CEUCO

¹ L'expression d'un récepteur de pathogène doit être accompagnée d'une réflexion sur l'exposition des OGM au pathogène, et des mesures adaptées au confinement de ce pathogène, si nécessaire.

Tableau 5 : classement indicatif pour les virus répliatifs génétiquement modifiés

Organisme receveur de(s) (l'insert(s))	Système d'évolution moléculaire	Transgène et gènes viraux modifiés	Modification potentielle de la virulence / du tropisme	Classe de manipulation requise
Virus de groupe 1	Non ou supervisé (voir colonne « modification potentielle de la virulence / du tropisme »)	Gènes rapporteurs Ajout/suppression de gènes viraux Transcomplémentation	Pas de modification de la virulence/du tropisme, ou atténuation	C1
			Possible augmentation de la virulence/du tropisme	C2-C4
	Oui ou non supervisé, avec possibilité de changement de phénotype	De fonction connue ou non	Possible augmentation de la virulence / du tropisme	C2-C4
Virus de groupe 2 à 4	Non ou supervisé (voir colonne « modification potentielle de la virulence / du tropisme »)	Gènes rapporteurs Ajout/suppression de gènes viraux Transcomplémentation	Pas de modification de la virulence/du tropisme, ou atténuation	C2-C4 selon le groupe du virus possibilité de déclassement en cas d'atténuation
			Possible augmentation de la virulence/du tropisme	C2-C4
	Oui	De fonction connue ou non	Possible augmentation de la virulence / du tropisme	C2-C4

Tableau 6 : classement indicatif pour les vecteurs viraux non répliatifs (défectifs) génétiquement modifiés

Type de vecteur ¹	Type de manipulation	Insert ²	OGM ³	Modification génétique stable ⁴	Classe de manipulation requise	Vérification de l'absence de vecteur répliatif
Vecteurs rétroviraux y compris lentiviraux TROPISME HUMAIN	Production de particules	A	Lignée cellulaire de groupe 1 ou animal de laboratoire	oui/non	C2	Non nécessaire ⁵
		B		oui/non	C3	Non nécessaire ⁵
		Génome entier de pathogène		oui/non	C2-C4 selon le pathogène	Non nécessaire ⁵
	Transduction	A / B	Lignée cellulaire de groupe 1 ou animal de laboratoire	oui/non	C2 puis déclassement C1 après 2 passages	Non nécessaire ⁵
			Lignée cellulaire de groupe 2 ou cellules primaires de primate	oui/non	C2	Non nécessaire ⁵
			Animal de laboratoire	oui/non	C1 sous PSM ou port d'EPI pour l'administration, puis C1	Non nécessaire ⁵
		Génome entier de pathogène	Lignée cellulaire de groupe 1 ; Lignée cellulaire de groupe 2 ou cellules primaires de primate ; animal	oui/non	C2-C4 selon le pathogène	Non nécessaire ⁵ Considérer la transcomplémentation des vecteurs de départ par le pathogène
Vecteurs AAV tous sérotypes	Production de particules	A	Lignée cellulaire de groupe 1 ou animal de laboratoire	oui/non	C2	Non nécessaire ⁵
		B		oui/non	C3	
		Génome entier de pathogène		oui/non	C3	
	Transduction	A / B	Lignée cellulaire de groupe 1	oui/non	C2 puis déclassement C1 après 2 passages (rarement du fait du caractère épisomal)	Non nécessaire ⁵
			Lignée cellulaire de groupe 2 ou cellules primaires de primate	oui/non	C2	
			Animal	oui/non	C1 sous PSM ou port d'EPI pour l'administration, puis C1	
		Génome entier de pathogène	Lignée cellulaire de groupe 1 ; Lignée cellulaire de groupe 2 ou cellules primaires de primate ; animal	oui/non	C2-C4 selon le pathogène	Non nécessaire ⁵

¹ Vecteur défectif : Génome viral recombinant dépourvu de capacité de répliation en l'absence de séquences de complémentation. L'absence de virus compétent pour la répliation, sous forme de contaminant ou de sous-produit doit être garantie.

² **Insert de type A** : toute séquence d'ADN dont le transfert ne comporte pas de risque d'augmenter le pouvoir pathogène de l'organisme récepteur. Dans le cadre des vecteurs défectifs, toute séquence sans risque de transformation ou toxicité directe pour le manipulateur.

Insert de type B : toute séquence susceptible de modifier le pouvoir pathogène de l'organisme récepteur ou séquence codant :

- une protéine d'un organisme de groupe > 1, sans homologue caractérisé dans les banques de séquences (déclassement possible après caractérisation),
- une toxine sous forme active,
- un allergène diffusible par aérosol,
- un oncogène (version mutée de protooncogène) driver, un oncogène viral.

Sont également des inserts de type B les génomes complets de virus de G2, G3 ou G4.

La liste ci-dessus n'est pas limitative et l'expertise du CEUCO ou du déposant peut la compléter selon le contexte.

³ En phase de production l'OGM est la cellule productrice.

En phase de transduction: l'OGM est la cellule ou l'organisme transduit.

⁴ Critère à connaître, mais pas nécessairement de nature à modifier le classement (intégration = stable).

⁵ Non nécessaire pour les vecteurs commerciaux et pour lesquels ceci est documenté par les données de la littérature.

Type de vecteur ¹	Type de manipulation	Insert ²	OGM ³	Modification génétique stable ⁴	Classe de manipulation requise	Vérification de l'absence de vecteur réplicatif	
Vecteurs Adénoviraux tous sérotypes (y compris les adénovirus à tropisme humain ET animal)	Production de particules	A	Lignée cellulaire de groupe 1	oui/non	C2	Nécessaire pour les adénovirus gutless ⁶	
		B		oui/non	C3		
		Génome entier de pathogène		oui/non	C2-C3 selon le pathogène	Nécessaire pour les adénovirus gutless ⁶	
	Transduction	A / B	Lignée cellulaire de groupe 1	oui/non	C2 puis déclassement C1 après 2 passages (rarement du fait du caractère épisomal)		Non nécessaire ⁵
				oui/non	C2		
			Animal	oui/non	C1 sous PSM ou port d'EPI pour l'administration, puis déclassement C1		
	Génome entier de pathogène	Toutes lignées cellulaires ; cellules primaires de primate ; animal	oui/non	C2-C4 selon le pathogène	Non nécessaire ⁵		
Autres vecteurs défectifs pour la réplication TROPISME HUMAIN	Production de particules	A	Lignée cellulaire de groupe 1	oui/non	C2	Nécessaire ⁵ et à documenter selon l'historique du vecteur	
		B		oui/non	Possibilité de reclassement en + ou - par le CEUCO		
		Génome entier de pathogène		oui/non	C2-C4 selon le pathogène et la capacité de production de particules à tropisme humain	Nécessaire ⁵ et à documenter selon l'historique du vecteur	
	Transduction	A / B	Lignée cellulaire de groupe 1	oui/non	C2 puis déclassement C1 après 2 passages selon le vecteur		Nécessaire ⁵ et à documenter selon l'historique du vecteur
				oui/non	C2		
			Animal	oui/non	C1 sous PSM ou port d'EPI pour l'administration, puis déclassement C1		
	Génome entier de pathogène	Toutes lignées cellulaires ; cellules primaires de primate ; animal	oui/non	C2-C4 selon le pathogène	Nécessaire ⁵ et à documenter selon l'historique du vecteur		
Tous vecteurs défectifs pour la réplication SANS TROPISME HUMAIN	Production de particules	A/B	Lignée cellulaire de groupe 1	oui/non	C1	Nécessaire ⁵ et à documenter selon l'historique du vecteur	
		Génome entier de pathogène		oui/non	C2-C4 selon le pathogène et la capacité de production de particules à tropisme humain		
	Transduction	A/B	Lignée cellulaire de groupe 1	oui/non	C1	Nécessaire ⁵ et à documenter selon l'historique du vecteur	
			Lignée cellulaire de groupe 2	oui/non	C2		
			Animal	oui/non	C1 sous PSM ou port d'EPI pour l'administration, puis déclassement C1		
		Génome entier de pathogène	Toutes lignées cellulaires ; cellules primaires de primate ; animal	oui/non	C2-C4 selon le pathogène et selon la capacité de production de particules à tropisme humain		Nécessaire ⁵ et à documenter selon l'historique du vecteur

⁶ Gutless : vecteur adénoviral dépourvu de l'ensemble des gènes viraux où seules les séquences d'encapsidation et de réplication persistent.

Tableau 7 : classement indicatif pour les plantes et cellules végétales génétiquement modifiées

Organisme receveur de(s) (l')insert(s)	Méthodes de transformation	Persistence et stabilité de la modification	Phénotype(s) induit par le transgène ou gène édité	Système de sélection	Classe de manipulation requise	Vérification de l'absence de libération de graines, de pollen ou de pathogènes-vecteurs ¹	Possibilité de changement de classe de manipulation
Plante entière non invasive reproduction par bouturage ou graines	<i>Agrobacterium</i> désarmé	Oui ou non	Sans modification du caractère non invasif ou des interactions plante/pathogène et/ou des interactions vecteur-pathogène	Oui ou non	En serre : C2	Obligatoire	Déclassement en C1 possible en absence de floraison et de vecteurs (agrobactérie, virus) sur/dans les plantes et pas d'utilisation de pathogènes de groupe supérieur à 1
					En laboratoire ² : C1	Non pertinent	Non pertinent
	Transfert direct de gènes	Oui ou non	Sans modification du caractère non invasif ou des interactions plante/pathogène et/ou des interactions vecteur-pathogène	Oui ou non	En serre : C2	Obligatoire	Possible si pas de floraison et pas d'utilisation de pathogènes de groupe supérieur à 1 ³
					En laboratoire ² : C1	Non pertinent	Non pertinent
	Agroinfiltration ou agroinfection ou VIGS ⁴	Oui ou non	Sans modification du caractère non invasif ou des interactions plante/pathogène et/ou des interactions vecteur-pathogène	Oui ou non	En laboratoire et serre : minimum C2 ⁵	Obligatoire	Non pertinent
	<i>Agrobacterium</i> désarmé	Oui ou non	Modification de la relation plante/pathogène	Oui ou non	En serre : C2-C3	Obligatoire	Non à déclarer formulaire DUO
					En laboratoire : C1-C3 selon le pathogène et la présence du vecteur ⁶	Obligatoire	Déclassement possible selon la classe du pathogène, justifications nécessaires
	Plante entière, reproduction par bouturage ou graines	<i>Agrobacterium</i> non désarmé (rhizogènes, tumefaciens)	Oui ou non	Toute étude y compris d'un phytopathogène	Oui ou non	En laboratoire et serre : C1-C3	Obligatoire
Culture <i>in vitro</i> (cellules végétales, cal...)	Toutes méthodes	Oui ou non	Toute étude y compris d'un phytopathogène	Oui ou non	C1-C2 ⁷	Obligatoire	Déclassement possible selon la classe du pathogène, justifications nécessaires

¹ Pour les pathogènes (transgéniques, édités ou non) transmis par des vecteurs aériens (pucerons...) il est nécessaire d'explicitier les précautions prises en cas de culture sur des végétaux en serres ou chambres de culture (contrôle des veines liquides et aériennes).

² *i.e.* plantules ou plantes *in vitro*.

³ Pour les plantes transgéniques obtenues via agrotransformation et cultivées en serre C1, une vérification rigoureuse de l'absence des agrobactéries par exemple par vérification de l'absence des gènes VirA et G du régulon Vir d'*Agrobacterium* dans les tissus de la plante) ou du vecteur porteur du transgène et de l'émission pollen (élimination des inflorescences) devra avoir été effectuée.

⁴ Dans le cas du VIGS : le classement s'applique en cas d'agroinfection ou d'infection par un virus modifié ou si la plante hôte est transgénique.

⁵ Ceci concerne, l'agroinfection, par transfert de séquences virales et d'un ADNc via un ADN-T avec promoteur constitutif type 35S par exemple, l'agroinfiltration par transfert sur des parties de plantes, l'utilisation de VIGS (en cas d'agroinfection ou d'infection par un virus modifié). Il devra être tenu compte également de la classe de confinement du virus phytopathogène.

⁶ En particulier s'il s'agit d'un organisme de quarantaine.

⁷ Concerne la manipulation *in vitro* de pathogènes de classe supérieure à C1.