



[www.efbs.admin.ch](http://www.efbs.admin.ch)



Schweizerische Eidgenossenschaft  
Confédération suisse  
Confederazione Svizzera  
Confederaziun svizra

Swiss Confederation

Eidgenössische Fachkommission für biologische Sicherheit EFBS  
Commission fédérale d'experts pour la sécurité biologique CFSB  
Commissione federale per la sicurezza biologica CFSB  
Cumissiun federala per la segirezza biologica CFSB

Swiss Expert Committee for Biosafety SECB

## **Recommandation de la CFSB**

### **pour une utilisation sûre de cellules et de cultures cellulaires humaines et animales**

**Octobre 2019**

Commission fédérale d'experts pour la sécurité biologique,  
c/o Office fédéral de l'environnement OFEV, 3003 Berne  
Tél. +41 58 46 052 38  
[info@efbs.admin.ch](mailto:info@efbs.admin.ch)  
<http://www.efbs.admin.ch>

## Table des matières

1. But et principe .....	3
2. Critères d'attribution des cellules à des groupes .....	3
3. Classification des activités impliquant des cellules .....	6
4. Des méthodes de travail sûres dans un milieu stérile.....	8
5. Références.....	9

## 1. But et principe

La présente recommandation de la Commission fédérale d'experts pour la sécurité biologique (CFSB) est une aide à l'évaluation des risques afin de garantir une utilisation sûre des cellules et cultures cellulaires humaines et animales en milieu confiné. Elle se réfère aux exigences de l'ordonnance sur l'utilisation des organismes en milieu confiné (OUC)<sup>1</sup> et de l'ordonnance sur la protection des travailleurs contre les risques liés aux microorganismes (OPTM)<sup>2</sup>.

Les cellules ne sont généralement pas infectieuses en tant que telles. Elles ne survivent pas lorsqu'elles sont injectées dans le corps et ne sont pas non plus capables de survivre dans l'environnement.

Le principal risque lié à l'utilisation de cellules réside dans la capacité de ces dernières à renfermer et multiplier des microorganismes pathogènes latents (virus, mycoplasmes, bactéries, mycètes et parasites). Les cellules peuvent en effet facilement être contaminées par des microorganismes pathogènes ou subir une contamination croisée avec d'autres cellules contaminées au cours des travaux. C'est la raison pour laquelle il est non seulement déterminant d'évaluer le risque initial qu'elles présentent, mais aussi de veiller à les utiliser de manière sûre afin d'empêcher ces contaminations.

## 2. Critères d'attribution des cellules à des groupes

- Les contaminations virales à potentiel pathogène concernent principalement les rétrovirus humains comme les virus de l'herpès de l'homme et de primates non humains. Quant aux contaminations par des mycoplasmes, elles sont le fruit de contaminations croisées avec des cellules infectées (lignées cellulaires continues jusqu'à 35 %, cellules en culture primaire 1 à 5 %).
- Le risque d'infection pour l'homme dépend de l'origine de la lignée cellulaire. Ainsi, plus celle-ci est phylogénétiquement proche de l'homme, plus le niveau de risque est élevé : cellules humaines > cellules de primates non humains > autres cellules de mammifères, d'oiseaux > cellules d'invertébrés<sup>3</sup>. C'est pour cette raison qu'il est déconseillé d'utiliser des cellules humaines provenant de soi-même (source autologue humaine)<sup>4</sup>.
- Le risque d'infection dépend également de l'origine du tissu : cellules du sang périphérique > cellules lymphoïdes > tissu neuronal > endothélium > épithélium intestinal > épithélium > fibroblastes<sup>3</sup>.
- Même les lignées cellulaires caractérisées ne sont pas toujours exemptes de contaminants de sorte qu'il convient de vérifier la fiabilité de la source d'approvisionnement.
- Une étude de la DSMZ (*Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen*, banque allemande de microorganismes et cultures cellulaires) a démontré que 14,9 % des 550 cellules analysées étaient mal identifiées<sup>5</sup>. Dans de nombreux cas, la mauvaise identification datait de l'isolement initial des cellules.

<sup>1</sup> Ordonnance sur l'utilisation des organismes en milieu confiné, OUC, RS 814.912, <http://www.admin.ch/opc/fr/classified-compilation/20100803/index.html>

<sup>2</sup> Ordonnance sur la protection des travailleurs contre les risques liés aux microorganismes (OPTM), RS 832.321, <http://www.admin.ch/opc/fr/classified-compilation/19994946/index.html>

<sup>3</sup> Pauwels K., Herman Ph., Van Vaerenbergh B., Dai Do Thi C., Berghmans L., Waeterloos G., Van Bockstaele D., Dorsch-Häsler K. & Sneyers M., 2007, Animal cell cultures: Risk assessment and biosafety recommendations. *Applied Biosafety* (Sécurité biologique appliquée) 12(1): 26-38. (en anglais)

<sup>4</sup> Stacey G, Hawkins J. 2017. Cell Lines: Applications and Biosafety, p 299-325. In Wooley D, Byers K (ed), *Biological Safety: Principles and Practices, Fifth Edition*. ASM Press, Washington, DC. doi: 10.1128/9781555819637.ch14, <http://www.asmscience.org/content/book/10.1128/9781555819637> (en anglais)

<sup>5</sup> DSMZ 2003, False leukemia and lymphoma cell lines (Fausses lignées cellulaires de lymphome et de leucémie), <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12592342> (en anglais)

- Les lignées cellulaires continues résultent d'un développement spontané (CHO, Vero) ou d'une mutation incontrôlée. Elles peuvent aussi être extraites de tumeurs (Hela) ou immortalisées par transformation avec des virus oncogènes<sup>3</sup>. Elles peuvent devenir néoplastiques en cas d'injection accidentelle.
- Les inserts qui sont transformants ou qui codent pour des facteurs de pathogénicité ou des protéines toxiques (par ex. des séquences oncogènes issues de l'immortalisation par des virus oncogènes) ou pour les molécules biologiquement actives intervenant dans le cycle cellulaire (cytokine, hormones, facteurs de croissance, antigènes) peuvent présenter un risque s'ils sont exprimés.

Pour pouvoir évaluer les risques avec exactitude, il faut que les cellules aient été identifiées, bien caractérisées et testées en vue de détecter d'éventuelles contaminations. L'absence de ces informations doit être considérée comme un risque potentiel (OMS, Manuel de sécurité biologique en laboratoire)<sup>6</sup>.

Il convient alors d'estimer s'il est judicieux de se procurer des informations complémentaires (recueillir de la documentation, effectuer des tests et caractériser les cellules) ou s'il vaut mieux compenser le manque d'informations par une classification du risque dans un niveau de sécurité supérieur.

**Tableau 1 : attribution des cellules à des groupes**

Type de cellules	Groupe
Cellules et lignées cellulaires primaires que l'on soupçonne d'être infectées par un microorganisme pathogène spécifique. Homme : par ex. cytomégalovirus, virus d'Epstein-Bar, virus herpès humain 8, virus lymphotropes des lymphocytes T humains de type I et II, virus de l'hépatite A, parvovirus B19, suivant l'origine virus du Nil occidental ou autres <sup>7</sup> . Primates : virus de la fièvre jaune, virus de la forêt de Kyasanur, virus de Marburg, virus Ebola, virus de la fièvre hémorragique simienne, virus de la rage, virus de l'hépatite A, virus de la poliomyélite, virus de l'herpès B, virus SV40, virus de l'immunodéficience simienne, virus de la variole simienne, virus mousseux simien <sup>8</sup> ou prions <sup>9</sup> . Rongeurs : par ex. virus de la chorioméningite lymphocytaire, virus Hantaan.	<b>Groupe du microorganisme pathogène</b>
Cellules et lignées cellulaires primaires pour lesquelles une infection ne peut pas être exclue. Le risque que des cellules primaires de donneurs asymptomatiques puissent être contaminées par des microorganismes pathogènes est généralement considéré comme faible <sup>10, 11</sup> .	<b>Groupe 2</b>

<sup>6</sup> OMS, 2004, Manuel de sécurité biologique en laboratoire. Troisième édition, <https://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/LabBiosMan3rdFrenchweb.pdf>

<sup>7</sup> *Sicherheit von Blutprodukten bezüglich viraler Infektionen* (Innocuité des produits sanguins en ce qui concerne les infections virales), Niederhauser, Ch., Service de transfusion sanguine CRS Berne, dans pipette 3/2005, [http://www.sulm.ch/pipette\\_magazin/files/pipette/2005-03/2005-03-019.PDF](http://www.sulm.ch/pipette_magazin/files/pipette/2005-03/2005-03-019.PDF) (en allemand)

<sup>8</sup> Pauwels K., Herman Ph., Van Vaerenbergh B., Dai Do Thi C., Berghmans L., Waeterloos G., Van Bockstaele D., Dorsch-Häsler K. & Sneyers M., 2007, Animal cell cultures: Risk assessment and biosafety recommendations. Applied Biosafety 12(1): 26–38 (en anglais)

<sup>9</sup> Recommandation de la CFSB pour la classification des travaux portant sur des gènes de prions et des protéines prions, <https://www.efbs.admin.ch/fr/recommandations/recommandations-de-la-cfsb/>

<sup>10</sup> *Stellungnahme der ZKBS zur Einstufung gentechnischer Arbeiten mit primären Zellen aus Vertebraten* (Prise de position de la ZKBS allemande concernant la classification des travaux de génie génétique impliquant des cellules primaires de vertébrés) [http://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Downloads/06\\_Gentechnik/ZKBS/01\\_Allgemeine\\_Stellungnahmen\\_deutsch/10\\_Zellbiologie/Primaerzellststellungnahme.pdf?\\_\\_blob=publicationFile&v=2](http://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Downloads/06_Gentechnik/ZKBS/01_Allgemeine_Stellungnahmen_deutsch/10_Zellbiologie/Primaerzellststellungnahme.pdf?__blob=publicationFile&v=2) (en allemand)

<sup>11</sup> Belgian Biosafety Authorities, *Animal cell cultures : Risk assessment and biosafety recommendations* (Cultures cellulaires animales : évaluation des risques et recommandations relatives à la sécurité biologique), <https://www.biosafety.be/content/contained-use-animal-cell-cultures-risk-assessment-and-biosafety-recommendations> (en anglais)

Type de cellules	Groupe
<p>Cellules et lignées cellulaires primaires pour lesquelles une infection par un microorganisme pathogène peut être exclue avec une forte probabilité.</p> <p>En fonction de leur provenance, les critères suivants s'appliquent :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Cellules humaines : cellules primaires provenant de personnes en bonne santé, lorsqu'elles ont été testées négatives au moins pour les virus VIH, VHC et VHB. Des tests supplémentaires peuvent toutefois être nécessaires si la personne a été exposée à des facteurs de risques (séjour sous les tropiques).</li> <li>- Cellules d'animaux provenant d'élevages exempts d'organismes pathogènes spécifiques ou d'animaux desquels on peut supposer qu'ils sont exempts d'épizooties<sup>12</sup> et de zoonoses.</li> <li>- Cellules d'animaux asymptomatiques et élevés dans les conditions prévues par les directives de la Fédération des associations européennes de la science des animaux de laboratoire (FELASA)<sup>13</sup>.</li> <li>- Cellules de bétail de boucherie et de volaille domestique autorisées à des fins de production alimentaire, dans la mesure où le passé médical de l'animal est connu et que la santé de ce dernier a été contrôlée par un vétérinaire officiel avant l'abattage. Il en va de même pour les cellules de gibier de chasse (p. ex. chevreuil)<sup>14</sup>.</li> </ul> <p>Les tests de qualité de la DSMZ (Banque allemande de microorganismes et cultures cellulaires) peuvent également être utilisés comme référence pour prouver l'absence d'organismes pathogènes<sup>15</sup>.</p>	<b>Groupe 1</b>
Lignées cellulaires identifiées et bien caractérisées <sup>16, 17, 18</sup> (cellules primaires incluses) qui ne sont manifestement pas infectées par des microorganismes pathogènes spécifiques (certificat de la banque de cellules [DSMZ, ECACC, ATCC, ...], ou du fournisseur).	<b>Groupe 1</b>
Lignées cellulaires identifiées et bien caractérisées ou cellules primaires infectées par un microorganisme pathogène spécifique (y compris infection intentionnelle).	<b>Groupe du microorganisme pathogène</b>
<p>Cellules humaines avec des séquences génétiques qui pourraient être dangereuses si elles étaient exprimées (même dans des conditions de culture inhabituelles).</p> <p>Par exemple :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- gènes de virus de tumeurs responsables du potentiel oncogène des virus,</li> <li>- gènes participant largement à l'apparition de tumeurs humaines,</li> <li>- gènes transformant les cellules de mammifères <i>in vitro</i> et</li> <li>- gènes produisant des tumeurs dans les expériences sur animaux<sup>19, 20, 21</sup>.</li> </ul>	<b>Groupe 2</b>
Cellules contenant des séquences génétiques potentiellement dangereuses, mais qui ne peuvent pas les exprimer.	<b>Groupe 1 si exempt de pathogènes</b>

<sup>12</sup> Ordonnance sur les épizooties, OFE, RS 916.401, [https://www.fedlex.admin.ch/eli/cc/1995/3716\\_3716\\_3716/fr](https://www.fedlex.admin.ch/eli/cc/1995/3716_3716_3716/fr)

<sup>13</sup> Fédération des associations européennes de la science des animaux de laboratoire (FELASA), 2014, *Recommendations for the health monitoring of rodent and rabbit colonies in breeding and experimental units* (Recommandations relatives à la surveillance de la santé des colonies de rongeurs et de lapins dans les unités d'élevage et d'expérimentation): <https://doi.org/10.1177/0023677213516312> (en anglais)

<sup>14</sup> Ordonnance concernant l'abattage d'animaux et le contrôle des viandes, OAbCV, RS 817.190, <https://www.fedlex.admin.ch/eli/cc/2017/66/fr>

<sup>15</sup> DSMZ, Cell Culture Quality Control, <https://www.dsmz.de/research/human-and-animal-cell-lines> (en anglais)

<sup>16</sup> ATCC 2007: *Cell line authentication test recommendations* (Recommandations relatives au test de vérification des lignées cellulaires). ATCC Technical Bulletin 8, <https://www.atcc.org/~media/PDFs/Technical%20Bulletins/tb08.ashx> (en anglais)

<sup>17</sup> DSMZ, *Catalogue of Human and Animal Cell Lines* (Catalogues des lignées cellulaires humaines et animales), <https://www.dsmz.de/collection/catalogue/human-and-animal-cell-lines/catalogue> (en anglais)

<sup>18</sup> Liste de lignées cellulaires bien caractérisées et classées en groupes de la ZKBS allemande: <https://zag.bvl.bund.de/zelllinien/index.jsf?dswid=3054&dsrid=756> (en allemand)

<sup>19</sup> *Stellungnahme der ZKBS: Vorsichtsmassnahmen beim Umgang mit Nukleinsäuren mit onkogenem Potential* (Prise de position de la ZKBS allemande: mesures de précaution à observer lors de l'utilisation d'acides nucléiques à potentiel oncogène), [http://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Downloads/06\\_Gentechnik/ZKBS/01\\_Allgemeine\\_Stellungnahmen\\_deutsch/10\\_Zellbiologie/Nukleinsaeuren\\_mit\\_onkogenem\\_Potenzial\\_2016.pdf?\\_\\_blob=publicationFile&v=2](http://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Downloads/06_Gentechnik/ZKBS/01_Allgemeine_Stellungnahmen_deutsch/10_Zellbiologie/Nukleinsaeuren_mit_onkogenem_Potenzial_2016.pdf?__blob=publicationFile&v=2) (en allemand)

<sup>20</sup> Recommandation de la CFSB pour le «risk assessment of activities with oncogenic and cytokine-encoding sequences», <https://www.efbs.admin.ch/fr/recommandations/recommandations-de-la-cfsb/> (en anglais)

<sup>21</sup> Prise de position générale de la ZKBS allemande sur l'évaluation des risques de l'expression des protéines de fusion TAT, [https://www.zkbs-online.de/ZKBS/SharedDocs/Downloads/01\\_Allgemeine%20Stellungnahmen/11\\_Zellbiologie/Tat-Fusionsprotein\\_2006.pdf?\\_\\_blob=publicationFile&v=4](https://www.zkbs-online.de/ZKBS/SharedDocs/Downloads/01_Allgemeine%20Stellungnahmen/11_Zellbiologie/Tat-Fusionsprotein_2006.pdf?__blob=publicationFile&v=4) (en allemand)

### 3. Classification des activités impliquant des cellules

Remarque générale : une activité impliquant des cellules humaines ou animales ne peut être attribuée à la classe 1 que si les informations sur leurs propriétés permettent de conclure de façon catégorique à leur appartenance au groupe 1. Il faut en outre que les cellules soient manipulées dans un local professionnel sûr et stérile (section 4).

**Tableau 2 : classification des activités impliquant des cellules**

Activité	Classe
<b>Cultures de cellules caractérisées des groupes 1 à 3</b>  <b>Exemples :</b>	<b>Classe selon le groupe des cellules ou du microorganisme pathogène</b>
- Cellules tissulaires humaines primaires bien caractérisées et négatives aux microorganismes pathogènes cultivées avec des facteurs de croissance afin de produire des transplants d'os.	Classe 1
- Culture, en vue d'une analyse (p. ex. biochimique) ultérieure, de cellules contenant ou pouvant contenir un organisme du groupe 3, dans la mesure où <u>la multiplication de cet organisme n'est pas le but explicite</u> de la culture	Classe 2
- Culture de CESS, lignée cellulaire humaine lymphoblastique établie possédant le génome entier du virus d'Epstein-Bar (VEB, groupe 2) et pouvant produire le VEB.	Classe 2
- Coculture de cellules humaines primaires (groupe 2) contenant le cytomégalovirus (groupe 2) et de cellules porcines exemptes d'organismes pathogènes spécifiques (groupe 1).	Classe 2
- Culture de cellules canines primaires (groupe 2) infectées par le virus de la maladie de carré ( <i>canine distemper virus</i> , groupe 2).	Classe 2
- Culture de ScGT-1, lignée cellulaire dérivée d'un neuroblastome murin, infectée par la tremblante du mouton (groupe 2).	Classe 2
- Culture de HuT 102, lignée de lymphocytes T humains, pouvant produire le virus lymphotrope T humain (HTLV-1, groupe 3).	Classe 3
<b>Production de virus ou de vecteurs viraux par des cultures cellulaires<sup>22</sup></b> <b>Exemples :</b>	<b>Classe selon le groupe du vecteur ou du virus</b>
- Production de vecteurs rétroviraux écotropes à réplication déficiente (groupe 1) par des lignées cellulaires murines établies (groupe 1).	Classe 1
- Production de vecteurs lentiviraux infectieux à réplication déficiente (groupe 2) par des lignées cellulaires du groupe 1 pour autant qu'il n'en résulte aucun virus natif ni vecteur apte à la réplication.	Classe 2
- Production de vecteurs viraux pseudotypés VSV-G inaptes à la réplication et contenant des séquences du rétrovirus endogène humain (HERV) (groupe 3) par des lignées cellulaires établies (groupe 1).	Classe 3
- Production du VIH par des lignées cellulaires du groupe 1.	Classe 3
<b>Culture de cellules dont la caractérisation est insuffisante ou que l'on soupçonne d'être infectées par des microorganismes pathogènes</b>  <b>Exemples :</b>	<b>Classe 2</b> <b>Classe 3 (en cas de soupçon de microorganismes appartenant au groupe 3)</b>

<sup>22</sup> Recommandation de la CFSB pour la «classification of work with genetically modified viral vectors», 2009, <https://www.efbs.admin.ch/fr/recommandations/recommandations-de-la-cfsb/> (en anglais)

Activité	Classe
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Culture de diverses cellules tumorales humaines primaires (PG2) à des fins d'analyse des mutations dans des séquences spécifiques responsables des propriétés tumorigènes, au moyen de tests d'hybridation de l'ADN.</li> </ul>	Classe 2
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Culture de cellules cancéreuses du foie de personnes positives au VHB.</li> </ul>	Classe 3
<p><b>Utilisation de cellules génétiquement modifiées<sup>23</sup></b></p>	<p><b>Classe selon l'évaluation du risque des cellules, vecteurs et inserts</b></p>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Propriétés des lignées cellulaires hôtes (dans le cas d'hybridomes, tenir compte des propriétés des deux cellules fusionnées),</li> <li>- vecteur utilisé pour la transformation (plasmides, vecteurs viraux),</li> <li>- transfert des séquences virales, transfert des facteurs de virulence,</li> <li>- essais d'activation de rétrovirus endogènes,</li> <li>- expression de produits géniques recombinants, présence de virus assistants.</li> </ul> <p>Notons également que certains gènes (par ex. tumorigénicité) ne sont exprimés (par ex. séquences rétrovirales insérées) qu'à partir d'un certain âge de la culture cellulaire, c'est-à-dire après un certain nombre de passages ou uniquement dans certaines conditions de culture (pH, nutriments et additifs).</p> <p><b>Exemples :</b></p>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Expression d'interleukine humaine non fonctionnelle dans des lignées cellulaires d'insectes certifiées, disponibles dans le commerce (<i>Spodoptera frugiperda</i>) transfectées par des vecteurs (<i>Baculovirus</i>) bien caractérisés non infectieux et disponibles dans le commerce.</li> </ul>	Classe 1
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Expression de facteurs de croissance humains dans des lignées cellulaires d'insectes et de souris bien caractérisées du groupe 1 ainsi que dans des lignées cellulaires humaines établies et bien caractérisées du groupe 1.</li> </ul>	Classe 1
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Surexpression de protéines de réparation de l'ADN dans des cellules primaires bien caractérisées du groupe 1.</li> </ul>	Classe 1
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Transduction de cellules neuronales murines primaires de souris élevées dans des conditions FELASA (groupe 1) par des vecteurs atténués de la pseudo-rage (groupe 2).</li> </ul>	Classe 2
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Transfection de cellules bêta humaines primaires du foie (RG2) par un vecteur adénoviral (groupe 2) porteur de siARN pour les gènes du diabète.</li> </ul>	Classe 2
<p><b>Utilisation de cellules (groupe 1) pour des analyses biochimiques, sans culture</b></p>	<p><b>Respecter les exigences de l'OPTM relatives à la protection contre l'exposition à du matériel potentiellement infectieux</b></p>
<p>L'utilisation de cellules (y compris le sang, les biopsies) qui n'implique pas la multiplication de cellules ou de microorganismes pathogènes éventuellement présents et qui ne vise pas l'identification de microorganismes pathogènes n'est pas considérée comme une utilisation impliquant des microorganismes pathogènes et, partant, ne tombe pas dans le champ d'application de l'OUC.</p> <p>Il est conseillé de suivre les recommandations de la Suva sur la prévention des infections transmises par voie sanguine dans les laboratoires médicaux (1997, n° de commande : 2869/19 f).</p> <p><b>Exemples :</b></p> <p>Extraction de protéines d'échantillons cliniques d'origine humaine pour comprendre la structure cristalline des protéines.</p>	

<sup>23</sup> Agence de la santé publique du Canada, 2015, Normes et lignes directrices canadiennes sur la biosécurité, 2<sup>ème</sup> édition, Lignées cellulaires: <https://www.canada.ca/fr/sante-publique/services/normes-lignes-directrices-canadiennes-biosecurite/deuxieme-edition.html>

## 4. Des méthodes de travail sûres dans un milieu stérile

Il est possible de réduire de façon significative, voire d'éviter, les contaminations des cultures cellulaires par des microorganismes pathogènes ou les contaminations croisées avec d'autres cellules en appliquant des méthodes de travail sûres dans un milieu stérile.<sup>24</sup>

La contamination des cellules pendant le travail est due :

- à une contamination préexistante au moment de l'acquisition des cellules ;
- à des matériaux contaminés comme les solutions (par ex. virus de la diarrhée virale bovine dans le sérum albumine bovine) et les additifs de la culture ;
- à des contaminations croisées avec d'autres cellules utilisées dans le même laboratoire et dont la contamination est connue ou latente, ou par d'autres travaux de microbiologie ou de biologie moléculaire réalisés dans le même laboratoire ;
- à la négligence de personnes qui manipulent les cellules (exemples documentés : absence de gants, parler, éternuer, poussières sur les manches dans le poste de sécurité biologique) ;
- à l'aération ou à une autre voie provenant de l'environnement.

Les mesures suivantes permettent d'éviter ces contaminations<sup>25</sup> :

- respecter les bonnes pratiques de laboratoire et veiller à ce qu'elles soient respectées : utiliser des solutions et des fournitures stériles certifiées, respecter les mesures d'hygiène personnelle (port de gants et d'une blouse), décontaminer régulièrement les plans de travail et les appareils, travailler dans un poste de sécurité biologique de classe 2 dégagé ;
- utiliser les banques de cellules primaires avec soin et les gérer de façon stratégique, répartir les cellules entre banques primaires et banques de travail en veillant à limiter le nombre de repiquages successifs (passages) ;
- utiliser un minimum d'antibiotiques ;
- tester les lignées cellulaires utilisées pour vérifier si elles sont contaminées ou confirmer qu'elles ne le sont pas.

Les tests d'identification ou de contamination des lignées cellulaires sont disponibles auprès de la plupart des fournisseurs commerciaux de lignées cellulaires. Il est également possible de les leur faire réaliser.

En cas de contamination, il est recommandé d'éliminer la lignée cellulaire en bonne et due forme et, si possible, de continuer à travailler avec une culture fraîche issue de la banque de cellules primaires. Décontaminer un local professionnel infecté par des mycoplasmes ou des virus implique en effet un très gros investissement et se révèle presque impossible.

Les tests de routine sur les lignées cellulaires peuvent également être remplacés par des mesures de sécurité plus strictes. Cependant, si le laboratoire dispose déjà de normes et de programmes de qualité élevés, il est éventuellement possible de travailler à un niveau de sécurité inférieur.

---

<sup>24</sup> OMS, 2013, Recommendations for the evaluation of animal cell cultures as substrates for the manufacture of biological medicinal products and for the characterization of cell banks, Annex 3, TRS No 978, <https://www.who.int/publications/m/item/animal-cell-culture-trs-no-978-annex3> (en anglais)

<sup>25</sup> Corning Incorporated 2017, Understanding and managing cell culture contamination, <https://www.chemie-brunschwig.ch/documents/suppliers-information/CLS-AN-020-cell-culture-contamination-guide-A4.pdf>

## 5. Références

- CDC –NIH, 2009, *Biosafety in microbiological and biomedical laboratories* (Sécurité biologique dans les laboratoires microbiologiques et biomédicaux), 5<sup>th</sup> edition, [https://www.cdc.gov/labs/BMBL.html?CDC\\_AA\\_refVal=https%3A%2F%2Fwww.cdc.gov%2Fbiosafety%2Fpublications%2Fbmb15%2Findex.htm](https://www.cdc.gov/labs/BMBL.html?CDC_AA_refVal=https%3A%2F%2Fwww.cdc.gov%2Fbiosafety%2Fpublications%2Fbmb15%2Findex.htm)
- Haut Conseil des biotechnologies (France), 2014. Manuel du HCB pour l'utilisation confinée d'organismes génétiquement modifiés, [https://www.esst-inrs.fr/3rb/ressources/manuel\\_hcb\\_2014.pdf](https://www.esst-inrs.fr/3rb/ressources/manuel_hcb_2014.pdf)
- Stacey G, Hawkins J. 2017. Cell Lines: Applications and Biosafety, p 299-325. In Wooley D, Byers K (ed), *Biological Safety: Principles and Practices*, Fifth Edition. ASM Press, Washington, DC. <https://doi.org/10.1128/9781555819637.ch14>
- EMEA, 1996, Note for guidance on quality biotechnological products: analysis of the expression construct in cell lines used for production of r-DNA derived protein products, CPMP/ICH/139/95, [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-q-5-b-analysis-expression-construct-cell-lines-used-production-r-dna-derived-protein-products\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-q-5-b-analysis-expression-construct-cell-lines-used-production-r-dna-derived-protein-products_en.pdf)
- EMEA, Scientific Guidelines, <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/research-development/scientific-guidelines>
- European Collection of Authenticated Cell Cultures, ECACC, <https://www.phe-culturecollections.org.uk/collections/ecacc.aspx>
- Stacey G., 2007, *Risk Assessment of Cell Culture* (Evaluation des risques des procédures de culture cellulaire), chapter 31. In: *Medicines from Animal Cell Culture Procedures*, Wiley Online Library, <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/9780470723791>
- Agence de la santé publique du Canada, 2015, Normes canadiennes sur la biosécurité, Deuxième édition, <https://www.canada.ca/fr/sante-publique/services/normes-lignes-directrices-canadiennes-biosecurite/deuxieme-edition.html>
- SBB, Section de biosécurité et biotechnologie, Belgique. Risques associés à l'utilisation de vecteurs viraux, <https://www.biosecurite.be/content/utilisation-confinee-risques-associes-lutilisation-de-vecteurs-viraux>
- SBB, Section de biosécurité et biotechnologie, Belgique, *Animal cell cultures : risk assessment and biosafety recommendations* (Cultures cellulaires animales : évaluation des risques et recommandations en matière de biosécurité), <https://www.biosecurite.be/node/319>
- WHO, 2020, Laboratory biosafety manual, 4rd Edition, <https://www.who.int/publications/i/item/978924001131>
- ZKBS, Zentrale Kommission für die Biologische Sicherheit Deutschland (Commission centrale allemande pour la sécurité biologique), *Allgemeine Stellungnahmen zur Zellbiologie* (Prises de position générales sur la biologie cellulaire), [https://www.zkbs-online.de/ZKBS/DE/Stellungnahmen/Zellbiologie/zellbiologie\\_node.html](https://www.zkbs-online.de/ZKBS/DE/Stellungnahmen/Zellbiologie/zellbiologie_node.html)