

SÉANCE PLÉNIÈRE 3

Dispositifs médicaux : détergence et désinfection à l'heure du prion

PLO5 - ACTUALITES SUR LE RISQUE « PRIONS »

DR PERRET-LIAUDET A.

*Laboratoire de Diagnostic des Maladies à Prions - Service de Neurobiologie.
Centre de Biologie et Pathologie Est des Hôpitaux de Lyon*

Suite à deux événements majeurs, transmission des lots contaminés d'hormone de croissance et la maladie de la vache folle avec ses conséquences sur l'homme, les maladies à prions (PrP) ont tenu le haut du pavé médiatique pendant de longues années suscitant peurs et inquiétudes liées à la connaissance imparfaite sur ces maladies et l'extraordinaire résistance aux procédés d'inactivation des agents reconnus pour responsables. Les modes changent et si nous sommes encore en plein tourbillon judiciaire pour les hormones de croissance, la très nette diminution des cas d'Encéphalopathies Spongiformes Bovines (ESB) et des cas humains de Maladie de Creutzfeldt-Jakob reliés (v-MCJ) a permis de relâcher la pression médiatique, laissant jusqu'à penser que le problème était fini... qu'en est-il au fait aujourd'hui ? Existe-t-il encore un danger alors que les nouvelles optimistes sur le nombre de cas ne peuvent cacher des faits plus pessimistes, tels que l'extraordinaire capacité de contamination par voie transfusionnelle de l'agent, sa présence dans des tissus considérés jusqu'à alors indemnes, l'absence de produit ou procédé « miracle » capable d'inactiver totalement ces agents et ce malgré des avancées certaines dans ce domaine ?

Le nombre de v-MCJ déclarées par an au RU est en constante diminution depuis 2004, 2007 n'ayant vu que 5 cas. Ainsi, début avril 2008, 166 cas de v-MCJ ont été détectés au RU depuis le début (1995). Cette diminution est parallèle à celle des cas d'encéphalopathies spongiformes bovines (ESB) qui est une maladie qui dans sa forme typique tend à disparaître. L'augmentation significative du nombre de cas déclarés de v-MCJ en 2005 et 2006 en France n'a pas été poursuivie en 2007, donnant un chiffre total de v-MCJ en France de 23 cas début avril 2008. Ces chiffres sont en accord avec les résultats des modèles employés par Chadeau(1) et Cooper(2) en France et au Royaume-Uni pour prédire que le nombre de cas futurs de personnes symptomatiques ne sera que de quelques centaines au Royaume-Uni et de quelques dizaines en France.

La mise en place de tests à l'abattoir a même permis de détecter des cas dits atypiques chez les moutons et les vaches(3). Pour ces dernières, et quelles que soient les différentes hypothèses sur l'origine de ces formes d'EST, il n'est pas farfelu d'imaginer un passage à l'homme ceci en raison de similitudes phénotypiques avec certaines formes sporadiques de MCJ. Les expérimentations en cours visent à préciser ce point.

La sensibilisation des cliniciens neurologues pour détecter et déclarer les suspicions de MCJ, mais surtout la déclaration des

suspensions des cas directement au Réseau par les biologistes du fait de l'utilisation de nouveaux marqueurs comme la protéine 1433 dans le LCR depuis 1996 ont permis dans un premier temps de doubler puis de stabiliser le nombre de cas de MCJ à une centaine par an en France (InVS).

Ces nouvelles très rassurantes ne doivent pas faire oublier que persiste une inconnue : la taille de la population asymptomatique infectée. En l'absence de test sanguin spécifique et sensible et dont l'utilisation serait difficile sur un plan éthique en l'absence de traitement efficace, une estimation est donnée à partir d'une étude basée sur la détection de la PrP res dans les amygdales et appendices de 12674 patients britanniques. D'après cette étude publiée en 2004(4), il y aurait 3808 porteurs de l'agent de l'ESB au Royaume-Uni suite à l'exposition alimentaire à cet agent.

Alors que jusqu'à fin 2007, tous les patients ayant développé une v-MCJ étaient homozygotes Methionine/Methionine (M/M) au codon 129 du gène PRNP codant la protéine PrP (CJ 129), cette étude avait permis de mettre en évidence deux génotypes Valine/Valine (V/V)(5) à partir des 3 appendices positives. Par ailleurs, une autre publication mentionnait une personne de codon M/V(6) porteuse asymptomatique de l'agent rendant cette partie de la population potentiellement infectieuse. L'incertitude quant à la capacité de ces personnes portant l'agent infectieux et de génotypes V/V ou M/V, de développer la maladie a été en partie levée avec la publication fin 2007 du premier cas de v-MCJ chez un patient V/V(7).

Ces données ne modifient pas les prévisions du nombre de cas à venir obtenues par les modélisations. Elles devraient cependant être affinées lors de la publication des résultats de l'étude de prévalence(8), démarrée au Royaume-Uni en octobre 2006, à partir de l'analyse de la PrPres sur plus de 100 000 amygdales.

Grâce à l'évolution des techniques de détection et grâce à la multiplication des études sur l'infectiosité des tissus, les données concernant la mise en évidence de la PrPres et ou de l'infectiosité dans les différents tissus ont évolué et permettent de mieux hiérarchiser ces tissus en tenant compte des différences v-MCJ et autres EST humaines. La hiérarchisation se traduit par une classification OMS(9) qui prend en compte les différences entre le v-MCJ et les autres formes d'EST et des études récentes montrant l'absence d'infectiosité en dépit de la détection de PrPres dans des tissus jusqu'alors réputés comme indemnes grâce à la mise en oeuvre de techniques de plus en plus sensibles. Toutefois, le lien entre l'infectiosité et la présence de PrPres n'a pas été étudié

pour tous les tissus. Trois classes de tissus sont identifiées. On y retrouve les tissus hautement infectieux connus comme le SNC ou liés anatomiquement mais pour lesquels on a accès à des informations plus précises: l'œil n'est plus considéré dans son ensemble et on le classe en tissu hautement infectieux pour la rétine et le nerf optique et en tissu à bas pouvoir infectieux pour la cornée. Dans la catégorie des tissus plus faiblement infectieux, on y retrouve le sang. Enfin, la catégorie des tissus non infectieux (ou non encore étudiés) clôt cette classification. A noter que cette classification est sujette évidemment à modification au gré de l'avancée des connaissances; par exemple, en 2008, vient d'être publié pour la première fois la possibilité de transmettre l'agent responsable de la scrapie par le lait classé en tissu non infectieux : un début de répllication de la PrP dans l'iléon distal a été retrouvé chez quelques animaux cliniquement sains et sacrifiés pour l'expérience(10).

Un des éléments importants de ces dernières années est le risque véhiculé par le sang. En effet, le risque transfusionnel mis en évidence lors de l'expérimentation sur des moutons(11) a été confirmé par la description de 3 cas cliniques de v-MCJ et d'un cas asymptomatique suite à une transfusion de globules rouges non déleukocytés issus de patients en phase pré clinique de v-MCJ, le dernier datant de février 2007(5-12). Le risque transfusionnel n'ayant été démontré que pour le v-MCJ, seuls les patients ayant reçu des produits sanguins labiles d'un patient v-MCJ sont classés dans le groupe de patients présentant un risque individuel(13-14).

Concernant le risque transfusionnel pour les formes sporadiques, il avait été annoncé au Congrès Neuroprion (Torino 2006) que des patients ayant reçu du sang de patient ayant développé une MCJ sporadique avait une chance plus élevée de développer la maladie plus de 10 ans après la transfusion par rapport à un patient transfusé Lambda. Ces résultats ne semblent pas confirmés à l'échelle européenne.

Quoi qu'il en soit, de nombreuses mesures visant à sécuriser les produits sanguins labiles et stables ont été prises et devraient permettre de limiter le risque. Pour les produits sanguins labiles, les procédés de déleukocytation se sont améliorés avec la mise en place de filtres retenant de plus en plus efficacement les leucocytes. Des filtres pouvant retenir la PrPres ont été validés. En terme de surveillance, les connexions AFSSAPS et Réseau National des Maladies à prions a permis de bloquer efficacement des lots de produits labiles issus de patients ayant présenté une MCJ. En ce qui concerne les produits dérivés du sang stables, plusieurs travaux présentent la capacité des différentes étapes de fabrication à retenir, voire éliminer l'infectiosité et la PrPres. A la suite de ces travaux, les procédés de fabrication ont vu fleurir notamment pour les fractions les plus riches en PrPres, par exemple les immunoglobulines, des étapes de sécurisation très efficaces contre les prions : filtration en profondeur avec des filtres adéquats, nanofiltration... Notons que notamment dans les études de partition de l'agent sans inactivation de celui-ci, il y a une très bonne corrélation entre infectiosité et PrPres.

Les ATNC ont pour caractéristique d'être résistants à la plupart des procédés habituels de stérilisation et de désinfection. Depuis mars 2001, date de la circulaire DGS N° 2001-138, de nombreuses études ont été réalisées sur l'activité de produits et/ou procédés vis-à-vis des ATNC. L'examen de la littérature conduit à noter une hétérogénéité des publications relatives à l'efficacité de différents produits/procédés vis à vis des ATNC car de nombreux paramètres influencent les résultats. Par exemple, il est difficile de

comparer les études avant 2000 réalisées le plus souvent en phase liquide à l'aide d'un homogénat de cerveau d'animal infecté par une souche de prion, à celles postérieures à 2000 qui privilégient des supports de type fils d'inox contaminés par de l'homogénat et supposés être plus représentatifs de la contamination et du traitement d'un dispositif médical. De plus, il est difficile de comparer des études très différentes dans leur conception et la méthodologie employée. Ces différences portent sur les modèles prions dont certains sont très loin et peu représentatifs des agents humains, sur les méthodologies de contamination et de traitement des supports modèles, sur la formulation de l'agent prétendu actif, sur les méthodes de détection de l'infectiosité et/ou de la PrPres.

Ces problèmes ont conduit l'AFSSaPS et la DGS à organiser une étude, de la part des laboratoires impliqués dans cette thématique, pour mettre en place et valider un protocole standard d'évaluation. Un industriel proposant un produit/procédé revendiquant une efficacité contre le risque « Prions » devrait présenter une procédure de validation correspondant aux critères de ce protocole.

Malgré ces limites, certaines pistes semblent se faire jour concernant « l'inactivation » et ou « l'élimination » des ATNC. Cet aspect sera développé par l'intervenant suivant.

Le groupe de travail en charge par la DGS de réactualiser la circulaire DGS N° 2001-138, a tenu compte de plusieurs éléments et a été confronté à plusieurs challenges. Pour l'analyse de risques, le classement des tissus infectieux de l'OMS et l'étude de la bibliographie ont permis de reclasser les actes à risque. En dehors d'une suspicion de MCJ, fallait-il conserver la notion de patient à risque individuel ? D'autre part, le classement des produits et procédés était totalement obsolète; la difficulté à comparer les résultats obtenus par les différentes méthodes d'étude mises en œuvre est un vrai casse tête pour introduire des « inactifs » vis à vis du risque ATNC dans la classification de la circulaire DGS N° 2001-138. De plus, le principe de la liste de produits de cette circulaire a un inconvénient majeur car elle ne permet pas d'intégrer tout nouveau produit ou procédé d'efficacité prouvée. Le dernier challenge résidait dans la séquestration et surtout la remise en service des DM séquestrés; un premier problème concernait les DM utilisés pour des actes touchant des tissus faiblement ou non infectieux chez des patients atteints de formes sporadiques de MCJ, le risque étant bien sur connu avant l'acte du fait de la suspicion de MCJ ; le deuxième problème plus difficile, traitait de l'attitude à avoir vis-à-vis de matériels utilisés chez un grand nombre de patients après qu'une MCJ ait été diagnostiquée.

En conclusion, on peut affirmer que d'une part, le risque lié à la maladie de la vache folle est derrière nous. D'autre part, le niveau de surveillance permet d'identifier et de réagir à des cas de transmission secondaire notamment via le sang et éventuellement à toute nouvelle tendance liée à l'apparition de formes atypiques. Enfin, la mise en place des traitements préconisés par les différentes circulaires successives pour juguler le risque lié aux ATNC a permis d'augmenter le niveau de qualité et de sécurité en matière de nettoyage, de stérilisation et de désinfection permettant d'envisager avec un haut degré de confiance l'élimination d'un agent théoriquement présent mais à de très faibles quantités et à l'origine d'EST. La réactualisation de cette circulaire, à la lumière des nouvelles connaissances, devrait permettre d'assurer de manière pragmatique la continuité de la sécurité vis-à-vis du risque lié aux ATNC.

REFERENCES

1. Chadeau-Hyam M, Alperovitch A. Risk of variant Creutzfeldt-Jakob disease in France. *Int J Epidemiol.* 2005 Feb;34(1):46-52.
2. Cooper JD, Bird SM. Predicting incidence of variant Creutzfeldt-Jakob disease from UK dietary exposure to bovine spongiform encephalopathy for the 1940 to 1969 and post-1969 birth cohorts. *Int J Epidemiol.* 2003 Oct;32(5):784-91.
3. Biacabe AG, Morignat Vulin J, Calavas D, Baron T. Atypical bovine spongiform encephalopathies, France, 2001-2007. *Emerg Infect Dis.* 2008 Feb;14(2):298-300
4. Hilton DA, Ghani AC, Conyers L, Edwards P, McCardle L, Ritchie D, Penney M, Hegazy D, Ironside JW. Prevalence of lymphoreticular prion protein accumulation in UK tissue samples. *J Pathol.* 2004 Jul;203(3):733-9.
5. Ironside JW, Bishop MT, Connolly K, Hegazy D, Lowrie S, Le Grice M, Ritchie DL, McCardle LM, Hilton DA. Variant Creutzfeldt-Jakob disease: prion protein genotype analysis of positive appendix tissue samples from a retrospective prevalence study. *BMJ.* 2006 May 20;332(7551): 1186-8.
6. Hewitt PE, Llewelyn CA, Mackenzie J, Will RG. Three reported cases of variant Creutzfeldt-Jakob disease transmission following transfusion of labile blood components. *Vox Sang.* 2006 Nov;91(4):348.
7. Mead S, Joiner S, Desbruslais M, Beck JA, O'Donoghue M, Lantos P, Wadsworth JD, Collinge J. Creutzfeldt-Jakob disease, prion protein gene codon 129VV, and a novel PrPSc type in a young British woman. *Arch Neurol.* 2007 Dec;64(12):1780-4
8. Dr JP Clewley, Transmissible Spongiform Encephalopathy (TSE) Unit, HPA Colindale Tonsil Validation Study
<http://www.nibsc.ac.uk/cjd/collaborations/Tonsil.html>
9. WHO guidelines on tissue infectivity distribution in TSE. 2006
10. Konold T. , Moore SJ, Bellworthy SJ, Simmons HA. Evidence of scrapie transmission via milk. *BMC. Vet.res.* 2008. Apr 8; 4(1): 14
11. Hunter N, Foster J, Chong A, McCutcheon S, Parnham D, Eaton S, MacKenzie C, Houston F. Transmission of prion diseases by blood transfusion. *J Gen Virol.* 2002 Nov;83(Pt 11):2897-905.
12. HPA press statement, 18 January 2007
13. Rapport groupe de travail Afssaps transfusion
14. Circulaire 645