



tribunes

Les agents transmissibles non conventionnels, ou prions : risques de santé publique

Les processus de transmission de l'infection aux prions sont mal connus. L'état des connaissances, à la fois de ces agents et de leur transmission, permet de proposer un certain nombre de mesures de prévention et de précaution.

Dominique Dormont
Professeur, CEA, Service de neurovirologie, Centre de recherches du Service de santé des armées, École pratique des hautes études

L'apparition de la maladie bovine et de la nouvelle forme de maladie de Creutzfeldt-Jakob (vMCJ) a rappelé la possibilité qu'ont les agents transmissibles non conventionnels, ou prions (ATNC), de franchir les barrières interspécifiques même lorsque l'exposition a lieu par voie orale. À ce jour, l'ensemble de l'Union européenne est concernée par l'ESB et on estime à 180 000 le nombre d'animaux malades recensés en Grande-Bretagne et à moins de 5 000 en dehors du Royaume-Uni. Quelques cas autochtones ont maintenant été décrits en Europe centrale et au Japon, ce qui souligne la possibilité d'exposition des bovins à l'agent de l'ESB en dehors de l'Europe. Depuis 1996, date de la description des premiers cas de vMCJ, de nombreux faits expérimentaux sont venus soutenir l'hypothèse d'une infection de l'homme par l'agent de l'ESB [13, 48]. En mars 2002, 114 cas de vMCJ ont été rapportés au Royaume-Uni, 6 en France, 1 en Italie et 1 en république d'Irlande. L'émergence de cette nouvelle maladie pose au moins deux problèmes en termes de gestion de la santé publique : 1) quelles sont les mesures nécessaires pour empêcher l'exposition humaine à l'agent de l'ESB ? 2) quelles sont les mesures permettant d'empêcher la transmission interhumaine secondaire du vMCJ au travers des actes médicaux et chirurgicaux ? La réponse à la première question est donnée par la mise en œuvre de l'élimination des abats à risque spécifié de la chaîne alimentaire humaine et animale et par le screening des animaux reconnus aptes à la consommation humaine à l'abattoir. La réponse à la deuxième question est aujourd'hui, au moins pour une part, plus

difficile. En effet, l'évaluation du risque de transmission interhumaine dépend de la stricte connaissance de la distribution de l'infectiosité chez le sujet infecté, en phase clinique ou préclinique, d'une part, et des procédures qui peuvent être appliquées aux actes médicaux et chirurgicaux pour « annuler » le risque « prions » d'autre part.

La distribution de l'infectiosité

La description récente de la présence de PrP-res et d'infectiosité dans les amygdales, les amygdales et la rate [14, 40] de sujets atteints de vMCJ suggère fortement une distribution de l'agent du vMCJ en dehors du système nerveux central à des niveaux significativement supérieurs à ceux observés dans la maladie sporadique et familiale. Le fait que les organes lymphoïdes soient infectieux indique que la probabilité de présence de l'agent infectieux, transitoire ou permanente, dans le sang périphérique doit être évaluée précisément. À ce jour, aucune maladie à prions naturelle n'est associée avec la présence d'infectiosité dans le sang. Toutefois, dans certains modèles animaux, il existe une infectiosité du sang, majoritairement associée aux cellules mononucléées. Les expérimentations visant à quantifier l'infectiosité dans le sang des patients atteints de vMCJ sont en cours, et leurs résultats devraient commencer à être connus dans le courant de l'année 2002. Enfin, l'absence de test de dépistage des individus infectés en phase asymptomatique gêne considérablement l'analyse fine de l'évolution de la distribution de l'agent infectieux, et donc la caractérisation des actes à risque dans le domaine médical et chirurgical.

Les procédures permettant l'inactivation ou l'élimination des ATNC

Plusieurs recommandations ont été produites par les instances d'expertise de l'OMS et européennes [25, 56]. Elles soulignent toutes la nécessité d'appliquer l'une des trois procédures suivantes : autoclavage à 134-136 °C pendant 18 minutes, traitement à la soude 1 N au minimum pendant 1 heure à température ambiante, traitement à l'eau de Javel pendant 1 heure à température ambiante. L'application d'une ou plusieurs de ces procédures aux actes médicaux et chirurgicaux considérés comme « à risque » permet de limiter voire d'annuler le risque de transmission lié aux instruments de chirurgie. Par ailleurs, des mesures comme la nanofiltration (15 nm) des produits d'origine biologique à utilisation thérapeutique permet d'augmenter le niveau de sécurité de ces médicaments.

Les mesures de prévention et de précaution

D'une façon générale, on peut considérer que, dans la problématique des maladies à prions, deux types de mesures peuvent être proposées :

- Les mesures de prévention, qui con-

cernent la mise à niveau de la stérilisation et des pratiques chirurgicales à l'hôpital et la gestion du risque d'exposition de l'homme à l'agent de l'ESB au travers de l'alimentation ou de l'utilisation thérapeutique de certains dérivés d'origine bovine.

- Les mesures de précaution, qui s'adressent à des risques non démontrés mais considérés comme possibles compte tenu de l'état d'avancement des connaissances scientifiques. Il s'agit par exemple des mesures qui visent à diminuer un éventuel risque transfusionnel (déleucocytation des dons de sang, filtration des plasmas, mise en place d'une réflexion sur la définition des indications de la transfusion) et de celles minimisant la probabilité de présence d'un prion au sein d'un dérivé plasmatique (nanofiltration).

La progression des connaissances induira nécessairement un ajustement de la limite entre prévention et précaution : ainsi, en 1996, les premiers cas de vMCJ ont fait passer l'absence d'exposition de l'homme à l'agent de l'ESB du domaine de la précaution à celui de la prévention, dès lors que l'implication de l'agent bovin a été montrée dans le développement du vMCJ. Pour ce qui concerne les maladies à prions, cette

évolution est forcément lente, compte tenu d'une part des incubations très longues des maladies de ce groupe chez l'homme et chez l'animal (cinq ans en moyenne chez le bovin et plus de 10 ans chez l'homme) et d'autre part des incertitudes dans ce domaine qui sont majeures et qui gênent toute approche quantitative du risque ; en effet, on ignore la dose minimale infectieuse d'agent de l'ESB pour l'homme, la force de la barrière d'espèce « bovin — homme » n'est pas connue, la durée de la période d'incubation du vMCJ n'est pas déterminée, et les effets de l'exposition de l'homme à des doses subinfectieuses répétées dans le temps ne sont pas du tout connus. Enfin, il est impossible aujourd'hui de prédire le nombre de cas de vMCJ à venir, tant au Royaume-Uni qu'en France. Les estimations les plus fiables font état de quelques centaines de cas en Grande-Bretagne [75], mais tous les modélisateurs insistent sur la prudence qui doit accompagner la prise en compte de ces modèles tant qu'on ne disposera pas d'un recul suffisant, estimé à dix ans, par rapport à la description des premiers cas : l'aide à la décision apportée par la modélisation ne sera vraiment pertinente qu'en 2005. ■

L'état des connaissances

Les encéphalopathies subaiguës spongiformes transmissibles (ESST) sont des maladies neurodégénératives lentes toujours mortelles qui peuvent être transmises à l'animal de laboratoire et pour lesquelles des accidents iatrogènes ont été rapportés dans la littérature [11]. Les micro-organismes qui en sont à l'origine sont les agents transmissibles non conventionnels (ATNC) ou prions, qui se distinguent par leurs propriétés atypiques au sein du règne des micro-organismes. En effet, bien qu'ils possèdent des propriétés proches de celles des virus conventionnels (ils sont titrables, filtrables, clonables *in vivo*, la susceptibilité de l'hôte dépend de facteurs génétiques et des souches différentes d'ATNC caractérisées par leur pathogénicité peuvent être décrites), leur résistance inhabituelle aux procédés d'inactivation [45, 72] et la composition exclusivement

protéique des fractions infectieuses spécifiques [61-63] a fait proposer l'hypothèse que ces agents pourraient être des entités infectieuses purement protéiques.

À ce jour, la purification et la caractérisation des prions ne sont pas effectuées : en particulier, dans l'état actuel des possibilités technologiques, il est impossible d'obtenir des fractions suffisamment pures pour permettre une caractérisation biochimique précise. Il n'est toujours pas possible de visualiser ces agents en microscopie électronique. L'analyse biochimique des fractions infectieuses semi-purifiées montre la présence de lipides, de glucides, de protéines et d'acides nucléiques. Toutefois, les acides nucléiques ne sont pas spécifiques et sont de petite taille.

Le seul composant variant avec le titre infectieux est la quantité de protéine PrP, une protéine de l'hôte qui s'accumule sous une forme patholo-

gique, la PrP-res ou PrP-sc [54, 61-63]. La protéine PrP est une sialoglycoprotéine de 30-35 kDa majoritairement exprimée par les neurones chez l'individu normal. Au dehors du système nerveux central, elle est exprimée par les cellules du système immunitaire et du système réticuloendothélial. Le gène codant la PrP est situé sur le bras court du chromosome 20 chez l'homme et comprend deux exons séparés par un intron de 10 kilobases [55] : la totalité de la séquence codante est dans le second exon. Cette protéine de 253 acides aminés est exprimée à la face externe de la membrane cellulaire où elle est ancrée par un glycosyl-phosphatidyl-inositol [18]. Sa demi-vie est de quelques heures et elle est rapidement réinternalisée pour être dégradée par les enzymes protéolytiques cellulaires. Chez l'individu infecté, la protéine PrP devient résistante partiellement aux enzymes



L'état des connaissances (suite)

protéolytiques et échappe au catabolisme cellulaire ; cette acquisition de résistance aux protéases n'est pas liée à une modification de la séquence primaire en acides aminés. Elle est plus probablement due à l'adoption d'une conformation pathologique stable [64]. Les méthodes biophysiques ont permis de montrer que le contenu en hélices alpha et en feuillets bêta plissés était différent dans la protéine normale et dans la protéine pathologique. La structure secondaire de la protéine PrP normale (PrP-c) est majoritairement en hélices alpha, et celle de la protéine pathologique est majoritairement en feuillets bêta plissés [23]. En 1996 et 1997, la structure tridimensionnelle de la PrP normale (PrP-c) de souris a été déterminée en résonance magnétique nucléaire [67, 68]. La PrP normale est composée d'un long fragment flexible à l'extrémité N-terminale, et d'une portion globulaire dense allant de l'acide aminé 121 à l'acide aminé 231 comprenant trois hélices alpha et deux petites structures en feuillets bêta plissés antiparallèles.

Malheureusement, la structure 3D de la PrP-res reste inconnue aujourd'hui. Par ailleurs, des expériences menées *in vitro* ont montré que la PrP-res pathologique dérivait de la PrP-c, et que l'accumulation de la protéine anormale se faisait sans hyperexpression des messagers correspondants. Le mécanisme post-transcriptionnel de l'accumulation de la PrP est maintenant admis [17-19]. À ce jour, la PrP-res copurifie avec l'agent infectieux, et les dissociations ente infectiosité et PrP-res sont exceptionnelles [47].

Les hypothèses protéiques

Les hypothèses les plus couramment admises aujourd'hui sont les hypothèses dites « protéiques ». L'hypothèse du prion [65] suppose que la pathogénicité est liée uniquement à l'acquisition d'une conformation pathologique par la protéine PrP [23]. Cette modification de la structure tridimensionnelle serait consécutive à une dimérisation entre un monomère de protéine normale et un monomère de PrP-res. La formation du dimère aurait

pour conséquence l'acquisition de la conformation pathologique par la protéine normale. Cette vision révolutionnaire de la transmission de l'information et de la pathogénicité en microbiologie impliquerait que la PrP puisse adopter un nombre relativement important de conformations stables et transmissibles d'individu à individu puisque plusieurs dizaines de souches de tremblante naturelle du mouton ont été identifiées par inoculation au rongeur [28, 44]. D'autres théories protéiques ont été proposées, en particulier celles qui donnent à la PrP un rôle d'auto-chaperonne [50] : si la PrP est normalement repliée, comme c'est le cas chez l'individu non infecté, elle va orienter le repliement de la protéine PrP native vers une forme correctement repliée et la PrP ainsi « maturée » sera alors fonctionnelle. Si la PrP présente dans l'environnement de la protéine native est une PrP à conformation pathologique, elle va orienter le repliement vers un état pathologique, assurant ainsi la propagation de la conformation pathologique. ■