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

concernant la classification des activités portant sur des gènes de prions et des protéines prions

Janvier 2013

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
https://www.efbs.admin.ch

Table des matières

1. Introduction **3**

2. Bases légales **3**

3. Mesures de sécurité pour les travaux portant sur des agents infectieux responsables des EST 3

4. Considérations concernant l'évaluation du risque lié aux travaux portant sur des protéines prions et des gènes de prions **4**

5. Classification des travaux portant sur des agents infectieux responsables de l'EST **5**

5.1 Animaux 5

5.2 Tissus 5

5.3 Aperçu de la classification des travaux portant sur des gènes PrP 5

5.4 Aperçu de la classification des travaux pathologiques portant sur des prions 6

6. Références bibliographiques **7**

1. Introduction

Les prions (de l'anglais ***p**roteinaceous **i**nfectious particle*) sont des particules protéiques infectieuses qui provoquent des maladies neurodégénératives telles que la maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ) et le kuru chez l'homme ou l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) et la tremblante du mouton (ou scrapie) chez les animaux. Ces maladies sont regroupées sous le terme générique d'« encéphalopathies spongiformes transmissibles » (EST), qui sera utilisé dans la suite de la présente recommandation. Un prion est issu d'un gène PrP (pour **pr**otéine **p**rion). La transcription et la traduction de ce gène génèrent la PrP endogène non pathologique, appelée PrP^{c} (c pour cellulaire). Le principal composant des prions, sinon le seul, est une forme pathologique mal repliée de la PrP, appelée PrP^{sc} (sc pour associée à la **sc**rapie). La PrP^{sc} induit une transformation de la PrP^{c} endogène en PrP^{sc}, de sorte qu'il se produit une réaction en chaîne autocatalytique. La PrP^{sc} se dépose ainsi dans les tissus concernés, en particulier dans le cerveau, où elle conduit à des lésions létales irréversibles. Les prions sont transmissibles aussi bien par voie orale que par voie médicamenteuse ou via des blessures. Les personnes qui utilisent des prions peuvent donc être infectées et développer ensuite une EST.

2. Bases légales

- Les agents infectieux responsables des EST sont classés dans le groupe 3** (OFEV, Classification des organismes. Module 2: virus. Etat: décembre 2011).
- Le groupe 3** comprend les organismes qui présentent un risque d'infection limité pour les travailleurs, étant donné que la transmission ne peut normalement pas se faire par voie aérienne mais uniquement par contact avec des tissus ou des fluides corporels infectés ou avec des instruments médicaux contaminés.
- On sait aujourd'hui avec certitude que l'homme peut contracter l'ESB en absorbant l'agent infectieux responsable de la maladie par voie orale. Les travaux portant sur cet agent doivent donc être réalisés dans des laboratoires du niveau de sécurité 3. Une dispense peut néanmoins être demandée pour certaines mesures de sécurité (cf. ci-dessous).
- S'agissant des autres EST animales (scrapie, maladie du dépérissement chronique), aucun lien n'ayant encore été établi avec les EST humaines, il est suffisant de respecter les mesures de sécurité exigées pour les laboratoires du niveau 2.

3. Mesures de sécurité pour les travaux portant sur des agents infectieux responsables des EST

- Le laboratoire doit satisfaire aux mesures de sécurité du niveau 3 mais peut demander à être dispensé de certaines mesures (cf. ci-dessous).
- Il doit posséder un sas avec des installations permettant de se laver et de se désinfecter; les douches ne sont toutefois pas obligatoires.
- Tous les travaux pouvant donner lieu à la formation d'aérosols doivent être réalisés dans un poste de sécurité microbiologique de classe II.
- Un autoclave validé pouvant atteindre une température de 134°C doit être installé dans le bâtiment, si possible dans le laboratoire lui-même.
- Les déchets et les eaux usées doivent être décontaminés.
- Une liste du personnel du laboratoire ayant été en contact avec des prions doit être conservée au moins pendant la durée prescrite par l'OUC et l'OPTM.

Mesures pouvant faire l'objet d'une dispense lors de travaux portant sur des prions, étant donné le danger relativement faible qu'ils présentent pour l'environnement:

- Filtration de l'air sortant du laboratoire à l'aide d'un filtre HEPA;
- Pression dans le laboratoire inférieure à la pression atmosphérique;
- Zone de travail rendue étanche de manière à permettre les fumigations, les prions ne pouvant pas être détruits par fumigation (de formaldéhyde p. ex.).

4. Considérations concernant l'évaluation du risque lié aux travaux portant sur des protéines prions et des gènes de prions

Lors de l'évaluation du risque lié à l'utilisation de prions, il y a lieu de tenir compte des connaissances acquises dans le cadre d'études scientifiques et exposées ci-dessous. Les travaux réalisés sur des protéines prions natives et des protéines prions mutées recombinantes doivent également être pris en compte.

- Cela fait déjà plusieurs décennies que des études expérimentales sont menées sur la tremblante du mouton chez la souris et le hamster. Rien n'indique que l'agent responsable de la tremblante du mouton entraîne un risque particulier pour les personnes exposées professionnellement, ni pour l'homme en général ou pour l'environnement. Il n'a encore jamais été démontré de contamination de l'homme. Par conséquent, il est possible de manipuler les rongeurs infectés par des agents responsables de la tremblante du mouton en respectant les mêmes mesures de sécurité que pour les rongeurs infectés par des organismes naturels exclusivement pathogènes pour la souris (appartenant au groupe 2).
- Il a été démontré que la structure primaire de la protéine prion joue un rôle important lors de la transmission des prions d'une espèce à une autre (Prusiner et al., 1990; Colby et al., 2011). La séquence du gène PrP bovin présente avec la séquence du gène humain une homologie plus grande que celle du gène de la souris ou du hamster (Gabriel et al., 1992). Bien qu'une transmission des agents responsables de l'EST bovine à l'homme soit possible, il semble improbable que les agents spécifiques à la souris ou au hamster puissent être transmis à l'homme.
- On est désormais capable de transformer la PrP^{c} native recombinante ainsi que la PrP^{c} issue d'extraits de tissus en prions infectieux (PrP^{sc}). La technique dite de la PMCA (pour ***P**rotein **M**isfolding **C**yclic **A**mplification*), notamment, permet de multiplier efficacement les prions infectieux en laboratoire (Castilla et al., 2005; Wang et al., 2010). Il faut absolument en tenir compte lors de l'évaluation du risque.
- Certaines activités portant sur les gènes PrP devraient être conduites avec précaution. Compte tenu des lacunes qui subsistent actuellement dans les connaissances, les travaux suivants présentent un risque pour l'homme et pour l'environnement: (1) le clonage de gènes PrP natifs dans des organismes hôtes capables de se répliquer dans / sur le corps humain et (2) l'expression de gènes PrP dans des systèmes d'expression procaryotes et eucaryotes susceptibles de produire de la PrP^{sc} infectieuse.
- Selon l'état actuel de la science, les mutations de la séquence ADN du gène PrP sans organisme hôte présentent un risque négligeable. Ces activités peuvent donc être affectées à la classe 1.

5. Classification des travaux portant sur des agents infectieux responsables de l'EST

Au vu des éléments ci-dessus concernant l'évaluation du risque, les recommandations suivantes peuvent être faites pour les travaux portant sur des prions et des protéines prions (cf. aussi tableau ci-dessous):

5.1 Animaux

- Les autopsies de bovins malades doivent être réalisées conformément à l'ordonnance sur les épizooties, dans le respect des mesures de sécurité du niveau 2 (cf. graphique p. 6).
- Une transmission par aérosol étant pratiquement exclue, l'élevage de bovins infectés à des fins de recherche peut être maintenu dans la classe 1.
- Les activités menées avec des animaux infectés par des prions de la tremblante du mouton adaptés aux rongeurs, à savoir les activités d'élevage / de soins, les interventions invasives (p. ex. inoculation de prions), ainsi que les examens post mortem et les prélèvements de tissus, sont affectées à la classe 2.
- Les activités menées avec des souris et des hamsters infectés par des prions de l'ESB, des prions apparentés ou des agents responsables de l'EST humaine sont affectées à la classe 2 lorsqu'il s'agit d'activités d'élevage / de soins – le risque de blessure par morsure ou griffure peut être réduit en manipulant les animaux à l'aide d'une longue pincette à bouts arrondis –, et à la classe 3 lorsqu'il s'agit d'interventions invasives (p. ex. inoculation d'agents responsables de l'EST), d'examens post mortem et de prélèvements de tissus.

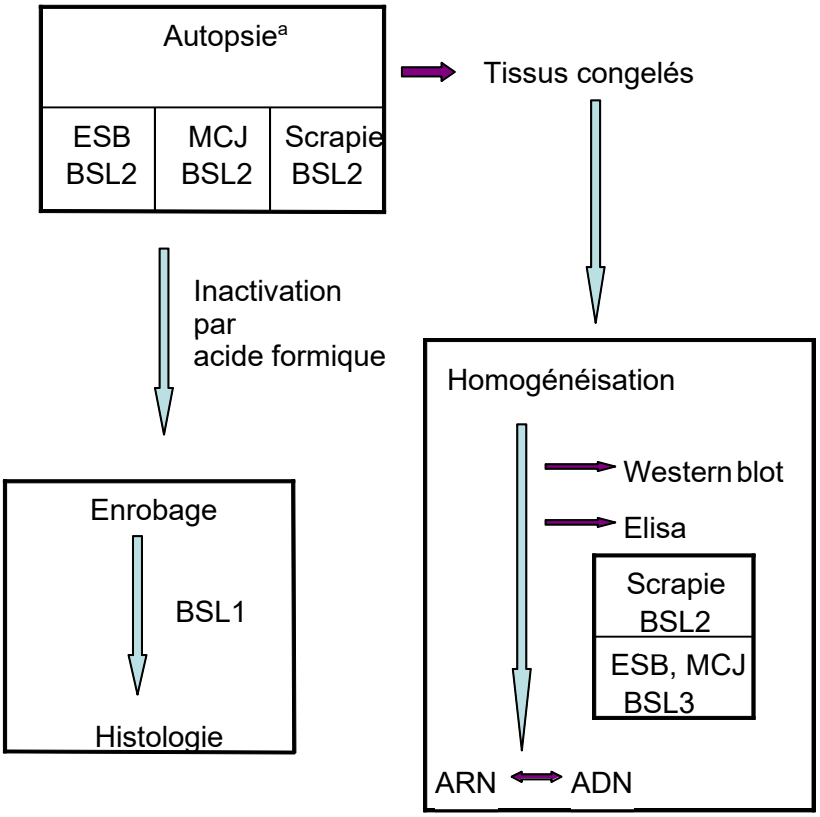
5.2 Tissus

Tous les travaux expérimentaux menés sur des tissus animaux lymphoïdes et neuraux renfermant des prions de la tremblante du mouton adaptés aux rongeurs sont affectés à la classe 2. Les activités expérimentales menées sur des tissus humains et animaux renfermant des agents de l'EST humaine ou bovine sont affectées à la classe 3.

5.3 Aperçu de la classification des travaux portant sur des gènes PrP

	Origine des gènes PrP			
	Ovin, rongeur		Bovin, homme	
Clonage de l'ADN de plasmide avec promoteur non actif	1		1	
	Etat de la protéine			
	PrP^{c}	PrP^{sc}	PrP^{c}	PrP^{sc}
Expression dans des systèmes d'expression procaryotes et eucaryotes qui ne se répliquent pas dans/sur le corps humain	1	2	1	2
Expression dans des récepteurs qui se répliquent dans/sur le corps humain	1	2	2	3

5.4 Aperçu de la classification des travaux pathologiques portant sur des prions



a Pour les autopsies d'hommes et de grands animaux, des mesures cliniques spécifiques doivent être prises.

6. Références bibliographiques

- Advisory Committee on Dangerous Pathogens, Spongiform Encephalopathy Advisory Committee. Transmissible spongiform encephalopathy agents: safe working and the prevention of infection. London (1998). HSE Books, PO Box 1999, Sudbury, Suffolk CO10 6FS.
- Prusiner SB, Scott M, Foster D, Pan KM, Groth D, Mirenda C, Torchia M, Yang SL, Serban D, Carlson GA, et al. Transgenetic studies implicate interactions between homologous PrP isoforms in scrapie prion replication. Cell 63, 673-86 (1990).
- Colby DW and Prusiner B. De novo generation of prions. Nature 9, 771-777 (2011).
- Gabriel JM, Oesch B, Kretzschmar H, Scott M, Prusiner SB. Molecular cloning of a candidate chicken prion protein. Proc Natl Acad Sci U S A 89, 9097-101 (1992).
- Directive du Conseil du 26 novembre 1990 concernant la protection des travailleurs contre les risques liés à l'exposition à des agents biologiques au travail (90/679/CEE). Journal officiel des Communautés européennes n° L 374/1 du 31.12.1990, et modifications ultérieures jusqu'au 6.12.1997 (97/65/CE).
- Risk assessment of laboratories involving the manipulation of unconventional agents causing TSE. (2009) isp/wiv.
- Guidance from the ACDP TSE Risk Management Subgroup: Minimise transmission risk of CJD and vCJD in healthcare settings https://www.gov.uk/government/publications/guidance-from-the-acdp-tse-risk-management-subgroup-formerly-tse-working-group
- Castilla et al. In vitro generation of infectious scrapi prions (2005) Cell 121, 195-206
- Deleault et al. Formation of native prions from minimal components in vitro (2007) PNAS 104, 9741-9746
- Wang et al. Generating a prion with bacterially expressed recombinant prion protein (2010) Science, 327, 1132-1135