

Traquer les prions, la mise au point des tests D'après un entretien avec Jacques Grassi

CEA/Saclay, service de Pharmacologie et d'Immunologie, bâtiment 136, 91191 Gif-Sur-Yvette cedex
jacques.grassi@cea.fr

En 1996, au CEA, le laboratoire de Dominique Dormont travaillait depuis longtemps sur les maladies à prion. L'équipe de Jacques Grassi collaborait déjà avec elle sur le VIH. Dès avril 1996, J. Grassi s'adresse à Dominique Dormont : « On ne connaît rien au prion, mais on sait ce qu'est un test », lui dit-il. Car le service de Pharmacologie que dirige J. Grassi développe des méthodes d'immuno-analyse et des dosages biologiques depuis 20 ans. Il dispose donc d'un savoir-faire s'appuyant sur l'utilisation des anticorps qu'il s'agit d'appliquer au prion. Dominique Dormont met en contact J. Grassi avec son collaborateur Jean-Philippe Deslys et c'est de cette façon que les choses se sont alors très rapidement mises en place. Dès le mois de septembre 1996, 5 personnes sont à temps plein sur ce sujet.

La mise au point va s'étaler de septembre 1996 à la fin de 1997. La stratégie est définie à la fin de 1996 et sera suivie ensuite jusqu'à la réalisation du test. Mais beaucoup d'experts n'étaient pas convaincus et ne croyaient pas que des tests rapides pourraient obtenir des performances suffisantes pour être utiles. Les spécialistes du prion ne connaissaient alors que l'injection intracérébrale. Le lien entre PrP¹ résistante et infection n'était même pas admis par tout le monde.

La société Enfer avait développé un test dès 1993 et l'avait commercialisé en 1997. « C'étaient les premiers tests rapides, mais ils ont ensuite vendu leurs tests sans dire comment ça marchait, directement à des supermarchés et ceux-ci pouvaient écrire 'BSE tested' alors que les tests n'avaient pas été validés. C'était assez surréaliste ! ».

« Il faut rendre hommage aux Suisses : ce sont les premiers à avoir montré que les tests rapides pouvaient détecter des cas d'ESB. » Dès 1998, la société Prionics avaient fait des tests en Suisse sur des populations à risque et avait montré qu'on pouvait obtenir des résultats positifs avec un test de type *Western-Blot*². En choisissant le *Western-Blot*, Bruno Oesch, chez Prionics, avait choisi une méthode de recherche bien connue et en avait fait un test rapide.

Mais, dès le départ, Jacques Grassi n'est pas convaincu de l'intérêt de ce type de test. Pour lui la meilleure solution c'était l'ELISA³ car, dans le monde entier, c'est la méthode qui est utilisée pour réaliser des tests rapides dans d'autres domaines comme le dépistage du SIDA, de l'hépatite B, etc.

Tous ces tests ont en commun de chercher à mesurer dans un tissu du système nerveux central la présence d'une protéine prion qui, quand elle est pathologique, la PrPres⁴, a des propriétés particulières : elle s'agrège et devient résistante à une enzyme - la protéinase K - qui dégrade la forme normale non pathogène du prion qui se retrouve dans presque tous les tissus.

Tous ces tests vont traiter un homogénat élaboré à partir de tissus du cerveau et détruire la protéine prion normale qui s'y trouve. C'est la méthode pour mettre en évidence cette PrPres qui varie d'un test à l'autre.

Chez Prionics, on va déposer cette protéine sur un gel d'électrophorèse qui, dans un champ électrique, permet aux protéines de migrer et ainsi de révéler les trois bandes caractéristiques de la PrPres grâce à des anticorps. Les protéines vont être transférées sur un support et c'est la révélation de leur présence sur ce support qui va permettre de caractériser la présence du prion pathogène qui a résisté à la protéinase K.

¹ PrP : protéine prion.

² Western-Blot : test mis au point par la firme suisse Prionics et réalisé sur un fragment du tronc cérébral après la mort de l'animal.

³ ELISA : Enzyme Linked Immunosorbant Assay, méthode de détection immunologique fondée sur l'utilisation d'anticorps marqués par une enzyme.

⁴ PrPres : protéine prion résistante.

« La caractéristique de notre test est d'opérer d'abord un traitement biochimique conçu par Jean-Philippe Deslys qui va concentrer très rapidement la PrPres. On va ensuite la dénaturer et, grâce à des anticorps, on va identifier la présence ou l'absence de la PrPres. »

Le CEA a répondu de justesse à l'appel d'offres de Bruxelles, lancé en 1998, et le test du CEA n'a été réellement prêt que quelques semaines avant le démarrage effectif du programme de validation européen. En juillet 1999, le test du CEA se trouve en tout cas validé par Bruxelles avec les meilleurs résultats en terme de sensibilité.

Pour ce qui est de l'industrialisation de ce test, il fallait absolument trouver un partenaire industriel et des contacts ont donc été pris avec des entreprises françaises. « Presque tous nous ont dit que ce test ne serait jamais commercialisé, sauf Sanofi-Pasteur ». Cette société n'était pas totalement convaincue de l'intérêt du test mais elle a sans doute considéré qu'il pouvait enrichir son offre au moment où, sans que le CEA en soit informé, elle négociait son rachat par la société américaine Biorad. Au sein même de Sanofi-Pasteur, peu de gens étaient d'ailleurs au courant de ces négociations.

À cette époque, le climat n'était pas favorable, aussi bien chez les experts que dans les sociétés de diagnostic. « Convaincre qu'il y avait un marché pour notre test n'était pas une chose évidente. » Pourtant, le test du CEA était prêt, validé par Bruxelles, et on disposait même des anticorps nécessaires au démarrage. L'investissement du CEA pouvait être évalué à 4 millions de francs (plus de 600 000 €), y compris les salaires. Sanofi-Pasteur a donc acheté la licence lui permettant de fabriquer ce test pour un montant relativement modeste mais, en contrepartie, le CEA obtenait un pourcentage significatif sur les kits qui pourraient être vendus ultérieurement. Ces sommes sont maintenant versées à la direction des Sciences du vivant du CEA qui les réinvestit dans la recherche. Toutefois, les laboratoires concernés ont bénéficié de retombées ultérieures liées à la commercialisation du test, notamment sous forme d'aides à la construction de laboratoires à Saclay et à Fontenay-aux-Roses.

Ensuite le test a eu beaucoup de mal à se faire accepter en France où, au ministère de l'Agriculture, les services de la direction générale de l'alimentation (DGAL) n'étaient pas tous favorables à l'extension des tests, s'appuyant sur l'efficacité du système de « surveillance passive » déjà en place. Le sentiment général paraissait être : « Si on trouve des cas en plus avec les tests, ça va renforcer les craintes des consommateurs. »

C'est la question de l'embargo sur les produits bovins britanniques qui a été le premier facteur de déblocage dans la mesure où la France s'est trouvée obligée de montrer aux Britanniques qu'elle faisait un effort en terme d'épidémiologie.

Mais pourquoi le test Prionics a-t-il été préféré en France au test Biorad ? Pour J. Grassi, ce choix ne s'est pas fait dans des conditions d'une grande transparence et il a ressenti un choix *a priori* en faveur de Prionics que l'administration a largement favorisé, pour des raisons qui n'ont jamais été clairement explicitées. Le test Biorad a connu beaucoup plus de succès à l'étranger, notamment en Belgique, en Suède, en Allemagne, au Japon, etc.

Au moment de la crise de la fin 2000, on a réussi à mettre en place en France très rapidement un programme de tests systématiques que les administrations et le pouvoir politique considéraient jusque-là comme impossible à mettre en œuvre. À ce moment-là, le test Biorad a réussi à se faire une place tant bien que mal en France jusqu'à représenter environ 30% des tests utilisés. Le test a véritablement décollé alors mais beaucoup plus grâce à l'étranger qu'à la France.

Cela ne s'est pas fait sans mal car ce type de test suppose la mise en place d'une organisation lourde et complexe mais aussi la formation des techniciens dans les laboratoires. En Allemagne, par exemple, beaucoup d'erreurs ont été faites par manque de formation suffisante des personnels. « Ce sont des tests relativement compliqués et c'est la première fois qu'on travaille à cette échelle sur des échantillons de tissus. » Or il est très différent d'analyser des tissus plutôt que du sang ou des urines. Il faut prélever la bonne partie des tissus dans le tronc cérébral. Il faut ensuite l'homogénéiser et cela doit être bien fait pour que le test fonctionne et aboutisse ensuite à des résultats pertinents.

Aujourd'hui, le test du CEA a évolué et il a été très simplifié dans le cadre d'une collaboration étroite entre le CEA et Biorad ; le temps nécessaire pour obtenir un résultat a été beaucoup raccourci. Un test a également été mis au point pour détecter la tremblante qui a été considéré comme le meilleur par

l'AFSSA. Toutefois, ce test ne permet pas de distinguer une ESB ovine de la tremblante ; le CEA continue à travailler dans cette voie bien que le problème soit très difficile à résoudre.

Pour ce qui concerne les tests sanguins, J. Grassi considère que « personne ne sait le faire actuellement ». On sait bien que le sang de mouton ou d'homme atteint par le variant de la maladie de Creutzfeldt-Jakob peut contenir du prion infectieux mais dans des quantités beaucoup plus faibles que dans le système nerveux central et avec des propriétés qui ne sont pas forcément les mêmes. « Personne ne sait s'il y a vraiment de la PrPres dans le sang et quelles sont ses propriétés. » On cherche alors des marqueurs qui signaleraient la présence de l'infection par le prion mais les premiers résultats obtenus, notamment en Allemagne, laissent J. Grassi très sceptique pour le moment.

Pour lui, il faut donc continuer à travailler sur l'ESB et les prions car rien ne prouve que les cas de vMC-J vont continuer à diminuer. Il est tout à fait possible que les cas déclarés actuellement ne concernent que les populations les plus fragiles et les plus exposées et que, dans l'avenir, de nouvelles catégories moins fragiles et moins exposées soient également touchées en grand nombre. Il est important de s'y préparer et il y a aussi beaucoup à faire dans les approches thérapeutiques.

« Il y a beaucoup de recherches à faire et tant qu'on a pas un test sanguin, il faut continuer à travailler sur le prion et à investir dans ces recherches », conclut Jacques Grassi ■

Propos recueillis par Yves Le Pape en février 2004



Dessin de Claire Brenot