

PROTÉINOPATHIES DU SYSTÈME NERVEUX CENTRAL ET STERILISATION

H.Ney
30042016

Vous souvenez vous??

Dans la nature, tout a toujours une raison. Si tu comprends cette raison, tu n'as plus besoin de l'expérience.

Léonard De Vinci



HNeY Journée SSSH SR 30042016

POINTS ABORDES

- Retour sur une invitation partagée : INRA
Conférence-Débat du mardi 15 mars 2016
- Un questionnement?
- Qu'en est il pour la Suisse?

HNey Journée SSSH SR 30042016

LES AMYLOIDOSES

- Dépôts extracellulaires de protéines insolubles dans les tissus
- La nature biochimique de la protéine impliquée dans la formation des dépôts caractérise la pathologie
- Cela conduit à la destruction des organes ciblés
- Une vingtaine de protéines peuvent conduire à la formation de dépôt amyloïdes

- Assemblages de feuillets β
- Retrouvées dans les levures, les biofilms (E Coli), les fibres des toiles d'araignées

HNey Journée SSSH SR 30042016

LES AMYLOIDOSES

- Rôle dans les maladies neuro-dégénératives:
- MCJ = PrP
- Alzheimer = Peptide $\alpha\beta$ et protéine tau
- Parkinson = Protéine α -synucléine

- Le changement de conformation de la protéine = un enrichissement en feuillets β

- La transmissibilité existe pour les 3 types de protéines, mais par induction d'une réaction biochimique seulement

HNey Journée SSSH SR 30042016

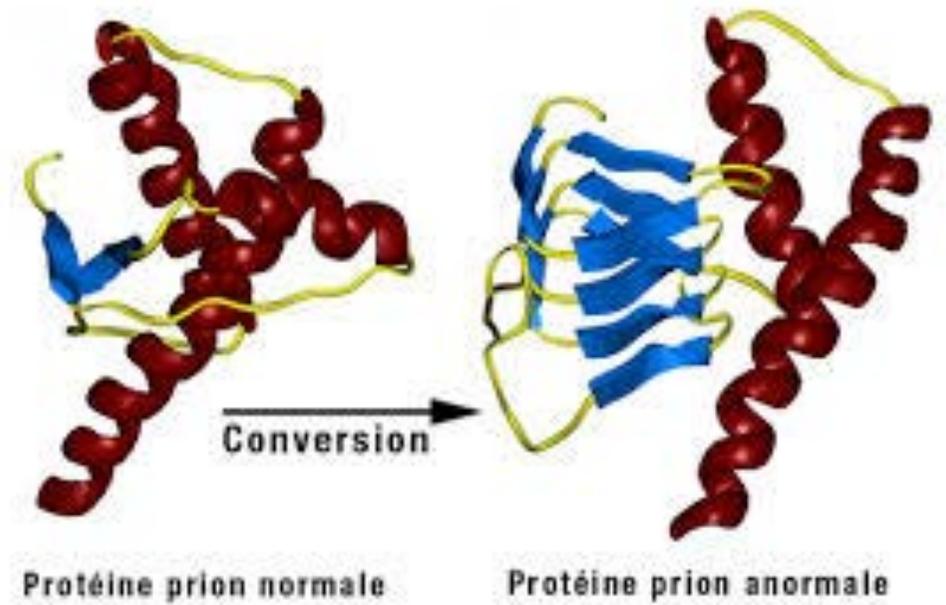
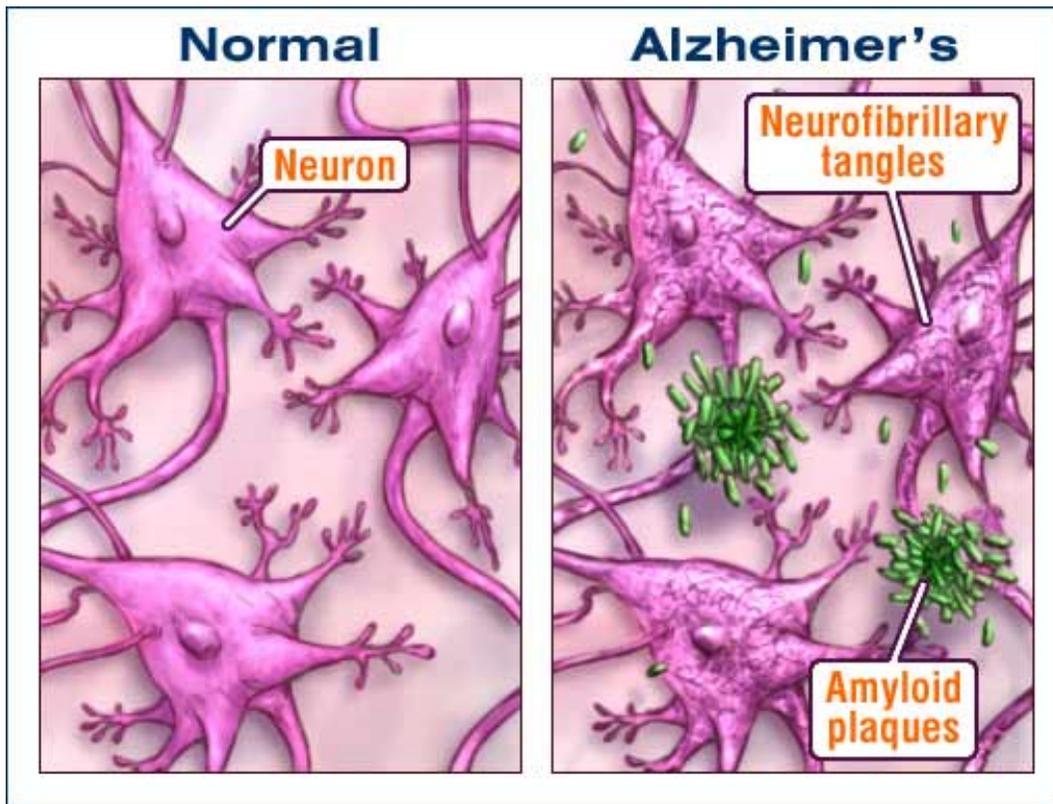
LES AMYLOIDOSES

- 2 inoculations de prions peuvent produire 2 phénotypes de maladies
- Phénomène de souche
- Variabilité structurale du prion

- Le caractère mutagène de la protéine pour Alzheimer est démontré. Pas de données épidémiologiques à ce jour

- Pour la maladie de Parkinson, pas de cas prouvés de transmission iatrogénique

HNey Journée SSSH SR 30042016



HNeY Journée SSSH SR 30042016

PROBLEMATIQUE DES TRANSMISSIONS INTERHUMAINES

- Période d'incubation inconnue (> 25-30 ans)
- Incidence annuelle des pathologies très différentes:
 - MCJ: 1.5 cas pour 1 million
 - Parkinson: 40 à 50 cas pour 100 000
 - Alzheimer: 225 000 nouveaux cas par an
- Intérêt à étudier des populations sentinelles. Modèles récents.
- Pas de conclusions à ce jour de transmissions interhumaines de maladie de Parkinson

HNey Journée SSSH SR 30042016

MODÈLES D'ETUDES IN VIVO DES AMYLOIDOSES

- Induction par les prions, en laboratoire, de pathologies semblables à la maladie naturelle
- Modèle transgénique avec expression de PrP de mammifère avec temps d'incubation plus court (< 1.5 mois)
- Création de modèles transgéniques « humanisés » de propagations de prions
- Titre infectieux de départ: 109.5 DL50 / gramme de cerveau

HNey Journée SSSH SR 30042016

MODÈLES D'ETUDES IN VIVO DES AMYLOIDOSES

- Moins avancé pour Parkinson et Alzheimer
- Injection d'extrait de cerveaux de patients malades décédés alors observation de l'accélération des dépôts d'agrégats dans la matrice test
- Pas de reproduction de la maladie expérimentalement
- Utilisation des tiges métalliques

HNey Journée SSSH SR 30042016

MODÈLES D'ETUDES IN VIVO DES AMYLOIDOSES

- Parkinson: augmentation de la maladie par injection d'extraits de cerveau avec la souris
- Sur les primates non humain, travaux avec protéines prions possibles
- Pour Alzheimer et Parkinson, résultats non réellement interprétables

HNey Journée SSSH SR 30042016

OUTILS D'AMPLIFICATION IN VIVO

- Limite de détection = 10^2 à 10^4 particules
- Les cellules sont permissives lorsque $> 10^2$ particules
- Technique d'amorçage : amplification non spécifique et non qualitative. Technique RT-quIC (Real-Time quaking induced conversion)
- Technique PMCA (Protein Misfolding Cyclic Amplification): amplification « fidèle » au déterminant de souche
- *Méthodes de détection in vitro en cours de réalisation. Semi-quantitative et faux positifs présents*

HNey Journée SSSH SR 30042016

EFFICACITE DE LA DETERGENCE

- Protocole PSP = Protocole Standard Prion ANSM
- Choix de la souche 263 K
- Technique western blot peu sensible. Facteurs de réductions de 3 log (risques de faux positifs non pris en compte)
- Tige métallique est le support: Ne tient compte que de l'élimination, du décrochage. Hétérogénéité de l'absorption compte tenu des rinçages
- Problème éthique de laisser les tiges à demeure chez l'animal

HNey Journée SSSH SR 30042016

EFFICACITE DE LA DETERGENCE

- Docteur Daisy Bougard publie le 10/12/2015 une méthode alternative:
 - Tige plus variant MCJ / amplification in vitro de prion (PMCA)
 - Puis idem avec souche de variant MCJ humain absorbée sur les tiges
- Un certain nombre de méthodes définies comme totalement inactivantes dans la liste positive de l'ANSM ne le seraient pas totalement...

HNey Journée SSSH SR 30042016

UN QUESTIONNEMENT?

- Proposition de faire évoluer le PSP, en fonction de ces nouvelles données scientifiques:
- Tester prion humain sporadique et variante
- Améliorer la méthode de détection in vitro
- Vérifier l'inactivation in vivo de l'innoculum traité et neutralisé
- Adapter la méthode à l'ensemble des amyloïdoses

Vers un protocole de contrôle
d'efficacité des amyloïdoses (PCEA)??

UN QUESTIONNEMENT?

Une méthodologie possible?

1. Amplification in vitro permettant une large gamme d'études, avec des dilutions jusque 10^{-8} , et rapides (une centaine d'heures)
2. Inoculum traité et neutralisé dans son ensemble (quantité précise)
3. Résultats en Bioessais (validés car les souris meurent en 181 jours, comme pour l'autre méthode)



QU'EN EST IL POUR LA SUISSE?

- Ordonnance sur les épidémies depuis le 01 janvier 2016
- Reprend les bases de l'omcj et intègre la nécessité de retraiter en fonction des instructions du fabricant
- Publication sur l'évolution des connaissances scientifiques et techniques réalisée par messieurs Frédy Cavin et Hervé Ney, transmise à swissnoso comme recommandations pouvant être suivies (liste positive ANSM, travaux du RKI, stérilisation basse température)

MERCI POUR VOTRE ATTENTION 😊

- Remerciements aux chercheuses et chercheurs de l'INRA de Jouy-en-Josas, aux experts présents, et au partenaire finançant ces recherches, pour le partage de leurs immenses connaissances spécialisées
- *Etudie, non pour savoir plus, mais pour savoir mieux
Sénèque*

HNey Journée SSSH SR 30042016