



RÉPUBLIQUE
FRANÇAISE

*Liberté
Égalité
Fraternité*

Rapport à
monsieur le ministre de l'Agriculture et de
l'alimentation
madame la ministre de l'Enseignement supérieur,
de la Recherche et de l'innovation

Deuxième mission d'expertise de la sécurité dans les laboratoires de recherche sur les prions infectieux – conditions de sortie du moratoire

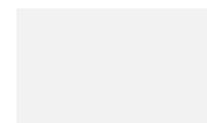
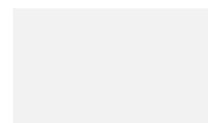
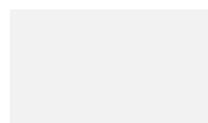
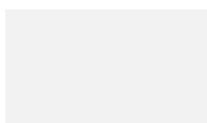
N° IGÉSR 2022-011 / CGAAER 21101 - janvier 2022

IGÉSR

INSPECTION GÉNÉRALE
DE L'ÉDUCATION, DU SPORT
ET DE LA RECHERCHE

CGAAER

CONSEIL GÉNÉRAL



*Inspection générale de l'éducation,
du sport et de la recherche*

*Conseil général de l'alimentation,
de l'agriculture et des espaces ruraux*

**Deuxième mission d'expertise de la sécurité dans les laboratoires
de recherche sur les prions infectieux –
conditions de sortie du moratoire**

Janvier 2022

Dominique CHABANET
*Inspecteur général
de santé publique vétérinaire*

Sacha KALLENBACH
*Inspectrice générale de l'éducation,
du sport et de la recherche*

Laure VILLARROYA-GIRARD
*Inspectrice santé sécurité au travail
de l'enseignement supérieur,
du sport et de la recherche*

SOMMAIRE

Synthèse	1
Liste des recommandations	4
Introduction	7
1. Le cas de possible contamination de l'agent A	8
1.1. Les hypothèses concernant la possible contamination de l'agent	8
1.2. Les conditions de travail au sein de l'équipe prion	9
1.2.1. <i>Les locaux</i>	9
1.2.2. <i>Les équipements de protection individuelles (EPI)</i>	9
1.3. Le management de l'équipe	10
1.4. Les certitudes et les incertitudes sur l'exposition au risque prion	10
2. L'équipe « Prion »	11
2.1. L'exposition aux risques des agents de l'équipe	12
2.2. L'environnement de l'UMR	13
2.3. L'organisation de l'hygiène et sécurité au sein de l'ENVT et les relations avec l'INRAE	13
2.4. Les autres équipes de recherche travaillant sur le prion en France	14
3. Le parangonnage avec des laboratoires étrangers	15
3.1. La communauté scientifique internationale	16
3.2. Les directives européennes	16
3.3. La situation en Italie	16
3.4. La situation en Espagne	17
3.5. La situation en Grande-Bretagne	17
3.6. La situation aux États-Unis	18
4. Les éléments de la maîtrise du risque	18
4.1. Les éléments matériels qui contribuent à la sécurité	19
4.2. Les éléments non matériels également indispensables en termes de sécurité	19
4.3. La spécificité de la recherche en termes de gestion du risque	19
5. Les conditions de la sortie du moratoire	20
5.1. Les prérequis	20
5.1.1. <i>La connaissance complète des équipes qui font des recherches sur les prions</i>	20
5.1.2. <i>Une boucle de rétro-action pour alimenter le guide de bonnes pratiques préconisé par la mission précédente</i>	21
5.1.3. <i>Un enregistrement de l'exposition et un suivi médical dans l'attente de la mise en place d'un Passeport pour chaque agent</i>	21

5.1.4.	<i>La mise en place d'une organisation spécifique pour assurer la sécurité et la confiance</i>	21
5.2.	Les conditions pratiques du redémarrage	23
5.2.1.	<i>Un audit préalable de chaque unité</i>	23
5.2.2.	<i>Le CHSCT local devra être réuni avant la reprise de l'activité</i>	23
5.2.3.	<i>Une réunion de réouverture élargie à toute l'équipe sous la présidence d'un représentant de la direction de l'institution</i>	23
6.	Les évolutions à court et moyen termes	23
6.1.	Court terme	23
6.1.1.	<i>La désignation d'un pilote Prion au ministère en charge de la recherche.....</i>	23
6.1.2.	<i>Vers des conditions L3 généralisées</i>	23
6.1.3.	<i>Étudier l'opportunité d'imposer a minima le niveau L2 pour les recherches sur les prions-like.....</i>	24
6.1.4.	<i>Une évaluation du risque des techniques nouvellement appliquées aux prions</i>	24
6.1.5.	<i>Une formation des médecins du travail à la problématique d'exposition au prion</i>	24
6.1.6.	<i>Mettre en place une organisation du suivi des personnes exposées par le passé.....</i>	24
6.1.7.	<i>Une animation de la communauté scientifique prion avec une attention à porter à la sécurité</i>	24
6.2.	À moyen terme des points d'attention et des conditions de réussite.....	25
6.2.1.	<i>Dans les unités mixtes de recherche examiner la bonne répartition des responsabilités</i>	25
6.2.2.	<i>Une consultation du comité d'éthique à réaliser</i>	25
6.2.3.	<i>Étudier la possibilité d'organiser une veille épidémiologique au niveau national</i>	25
6.2.4.	<i>Développer l'approche One-Health.....</i>	25
Annexes	27

SYNTHÈSE

Par lettre de mission en date du 27 septembre 2021 des directeurs de cabinet de la ministre de l'enseignement supérieur, de la recherche et de l'innovation et du ministre de l'agriculture et de l'alimentation, l'inspection générale de l'éducation du sport et de la recherche (IGÉSR) et le conseil général de l'alimentation, de l'agriculture et des espaces ruraux (CGAAER) ont été saisis à la suite du diagnostic probable d'une maladie à prion sur une personne retraitée de l'équipe de recherche INRAE¹ ENVT² travaillant sur le prion.

Au moment de la saisine des deux inspections générales, aucun enregistrement d'accident ou incident pouvant expliquer la contamination n'avait été mise en évidence. Cette situation laissait ouvertes toutes les hypothèses et créait un climat anxieux pour toutes les équipes de recherche travaillant sur le prion.

La saisine demandait à la mission d'explorer toutes les voies de contamination possibles, d'en tirer les conséquences scientifiques et techniques et de faire des recommandations sur les conditions de sortie du moratoire institué à partir du 25 juillet 2021 suite à la prise de connaissance par les tutelles des laboratoires de recherche concernées du second cas possible de maladie de Creutzfeldt-Jakob.

Enfin, elle recommandait d'effectuer une comparaison des conditions de travail des laboratoires travaillant sur le prion à l'international afin de situer les pratiques de la communauté scientifique française et de proposer d'éventuelles recommandations.

Dès le début de la mission, des enregistrements relatant des coupures ont été retrouvés dans des registres hygiène et sécurité du laboratoire INRAE ENVT, dont une avec une lame de microtome probablement contaminée. Les auditions de collègues de la personne atteinte indiquent que les coupures sont un accident extrêmement courant en histologie lorsque l'on travaille sur un microtome ; ils ont aussi rapporté à la mission au moins un autre épisode de coupure dont la trace n'a pas été retrouvée dans les enregistrements d'accidents. Ces témoignages et leur recoupement rendent probable l'hypothèse d'une contamination par coupure avec du matériel contaminé. Cependant, les autres hypothèses qui avaient été explorées par l'INRAE ne peuvent être écartées dans la mesure où toutes sont possibles y compris la voie aérienne, la fréquence de production d'aérosols se renforçant avec l'évolution des techniques utilisées en recherche.

Au-delà de l'analyse de ce nouveau cas, la mission s'est attachée à explorer les environnements matériel, immobilier et humain qui ont pu favoriser une contamination. Cette exploration s'est faite sur la base des connaissances actuelles tout en essayant de prendre en compte l'environnement et le contexte des connaissances et de la technologie de l'époque de la possible contamination dans la mesure où le niveau des normes, le matériel disponible ne correspondent pas aux conditions actuelles de recherche.

L'analyse du fonctionnement et du management de l'équipe de recherche a montré que l'organisation, les décisions de recherche et de sécurité étaient concentrées sur un noyau très restreint de personnes autour du chercheur chef d'équipe. Cette situation est susceptible d'entraîner un conflit d'intérêts entre la volonté de faire progresser les travaux de recherche et la protection des personnes. La mission a formulé des recommandations pour séparer les deux lignes fonctionnelles (travaux de recherche et sécurité des recherches) en termes de décision tout en préconisant une formation renforcée en management de la santé et sécurité au travail de la ligne hiérarchique du laboratoire et un fonctionnement beaucoup plus participatif dans lequel la formation de tous les agents a également sa place.

Enfin, la mission a entendu des personnes s'étonnant qu'un travail prospectif de recensement complet des personnes ayant été exposées à des prions ne soit pas réalisé afin de les informer de la situation et de leur proposer notamment un suivi médical. Ce point pose des questions éthiques pour lesquelles il conviendra d'interroger les comités d'éthique spécialisés.

¹ Institut national de recherche pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement.

² École nationale vétérinaire de Toulouse.

Beaucoup d'interrogations et d'angoisses ont été exprimées lors des entretiens avec la mission par les personnels et les chefs d'équipe sur tous les sites sur lesquels la mission s'est déplacée. Cette situation nécessite de bien expliquer les conditions de sortie du moratoire et d'en encadrer strictement les modalités.

Dans cette optique, la mission a identifié des prérequis à la sortie du moratoire et a formulé des préconisations de court terme et de moyen terme. Parmi ces prérequis, l'élaboration d'un guide de bonnes pratiques, déjà évoquée par la mission précédente³, est bien avancé. Ce guide en version zéro permettra, à partir d'une grille à construire, d'effectuer des audits externes de l'ensemble des équipes concernées afin de vérifier notamment les conditions de travail et les niveaux de décision en termes de sécurité en vigueur dans chacune de ces unités. Les résultats de ces audits permettront, le cas échéant, d'ajuster le contenu du guide. Les écarts entre les pratiques observées et les recommandations du GBP devront être justifiés et l'ensemble des observations sera présenté à la direction générale ou à la présidence de l'établissement tutelle de l'unité qui pourra alors décider de la reprise des activités de recherche au sein du laboratoire ou d'y surseoir.

L'équipe d'audit devrait être constituée *a minima* d'un préventeur, d'un chercheur externe à l'équipe concernée, et d'un spécialiste des MOT⁴.

Sur le plan organisationnel, la mission préconise que l'organisation du suivi de la sécurité s'inspire de modèles issus d'autres domaines où la fonction sécurité est indépendante de la ligne hiérarchique scientifique, dans une logique de redondance des sécurités, ce qui nécessite un positionnement adapté des assistants de prévention, lesquels doivent pouvoir alerter la direction de l'unité de recherche mais aussi le niveau supérieur. Elle préconise également que la réflexion autour de la sécurité des laboratoires associe toutes les composantes des équipes de recherche (y compris les animaliers) et des préventeurs ; une *commission scientifique d'évaluation de la sécurité prion locale* devant lequel les chercheurs viendront présenter leur projet de recherche et les éléments de sécurité associés pourra être placé auprès de la direction de site.

La mission s'est également intéressée aux techniques actuellement utilisées par les équipes de recherche qui ont évolué ces vingt dernières années et évolueront encore. La contamination par voie aérienne qui paraissait extrêmement improbable il y a 30 ans est sans doute devenue possible du fait de la forte concentration de prion obtenue en laboratoire couplée à l'utilisation de techniques qui génèrent des aérosols (sonication, ultracentrifugation, ribolyse, etc.). En conséquence, la mission préconise que la notion de classe 3* soit revue et que toutes les recherches sur les prions soient faites dans un environnement de classe 3 strict.

Dans ses entretiens la mission a également rencontré des chercheurs qui s'intéressent aux prions-like ; ceux-ci présentent de fortes similitudes, dans leur mode d'action et de propagation, avec les prions ; la mission recommande d'élargir à ce secteur les mesures qui seront prises en matière de prions.

Enfin la mission a effectué des comparaisons de la réglementation française avec la réglementation d'autres pays (Italie, Espagne, Grande-Bretagne et États-Unis⁵) ainsi que des conditions de travail qui en découlent. Cette comparaison met en évidence des situations très diversifiées en termes de niveau de sécurité lié aux infrastructures et montre que la sécurité des recherches sur le Prion est extrêmement liée aux procédures utilisées et à la manière dont cette sécurité est organisée, comprise et mise en œuvre par les équipes et les chefs d'équipe.

La mission constate qu'en France l'expertise du domaine de recherche du prion est dispersée et qu'il n'y a pas actuellement d'animation de cette communauté scientifique ce qui nuit à la diffusion des bonnes pratiques. Aussi préconise-t-elle la mise en place par le ministère d'un comité national Prion dont le pilotage pourra être confié au binôme CNR - LNR. Celui-ci aura pour première mission l'actualisation du guide de bonnes pratiques sur le prion. Il pourra également être consulté par les équipes pour les sujets relatifs à la sécurité et émettra des avis sur les conditions de sécurité à mettre en place lors du développement ou l'introduction de nouvelles technologies. Il assurera une veille scientifique internationale et une activité de conseil auprès du ministère pour la mise en place d'une réglementation adaptée à l'activité de recherche sur

³ Mission d'expertise de la sécurité dans les laboratoires de recherche sur les prions infectieux CGAAER, IGESR septembre 2020.

⁴ Microorganismes et toxines hautement pathogènes.

⁵ Sur la base de documents pour ces deux derniers.

le prion. Enfin, doté d'un budget, il organisera un colloque national annuel au cours duquel une demi-journée devra être consacrée au sujet de la santé et sécurité au travail.

Mots clés : protéine prion, prion-like, ATNC, EST, encéphalopathie spongiforme transmissible, accident de laboratoire, histologie, PMCA, animaux transgéniques, recherche scientifique, santé sécurité au travail.

Liste des recommandations

La mission a identifié huit recommandations qui s'appliquent à l'ensemble du secteur de la recherche sur le prion.

1 - S'assurer de la séparation effective des chaînes de responsabilité sécurité et recherche jusqu'au plus haut niveau possible de la hiérarchie.

La mission rappelle que les responsabilités précises des différents niveaux d'acteurs en matière de prévention doivent être définies. Aussi, dans le cas des unités mixtes de recherche la convention de coopération scientifique doit prévoir explicitement la répartition des rôles et un bilan partagé doit être réalisé annuellement.

La mission préconise que les deux chaînes sécurité et recherche soient indépendantes jusqu'au plus haut point possible de la hiérarchie afin d'éviter les conflits d'intérêt. Pour cela, l'assistant de prévention dans une équipe prion doit pouvoir bénéficier d'une lettre de cadrage de ses missions précisant qu'il peut prendre contact directement et en tant que de besoin avec le conseiller de prévention (CP) placé auprès du directeur général ou du président de l'organisme de recherche.

2 - Mettre en place un système permettant de s'assurer de la séparation effective des chaînes de responsabilité sécurité et recherche jusqu'au plus haut point possible de la hiérarchie management de la santé et de la sécurité au travail collégial au niveau local.

Une gestion des risques pragmatique doit prendre en considération les pratiques et contraintes constatées par tous les manipulateurs. Pour cela une « commission scientifique d'évaluation de la sécurité » locale devra être installée auprès du responsable de structure en charge de la sécurité identifié dans la convention de coopération scientifique dans le cas des UMR. Cette commission, sera constituée de chercheurs, de préventeurs et de techniciens de laboratoire et animaliers ainsi que d'un préventeur et d'un expert scientifique extérieurs à l'équipe afin de garantir la plus grande objectivité. Elle devra réévaluer toutes les procédures et organisations pour optimiser l'ergonomie et la sécurité des activités. Une attention sera apportée à ce que tous travaillent ensemble au sein de « la commission scientifique d'évaluation de la sécurité », chacun apportant son point de vue, sans que l'un soit pré éminent sur l'autre (hormis la recherche de sécurité). Les protocoles de recherche définissant les aspects sécurité seront présentés à cette commission dont les avis seront soumis au directeur de structure ou plate-forme qui décidera en dernier ressort (il peut s'opposer à un protocole). Un bilan des travaux de cette commission sera présenté en CHSCT. Les protocoles actuellement en cours devront être, préalablement à leur redémarrage, examinés par cette instance. Le document unique d'évaluation des risques devra être actualisé.

Cette organisation s'inscrira dans un cadre Assurance Qualité pour les équipes qui suivent une norme ou s'inspirera fortement des principes de l'assurance qualité pour celles qui n'ont pas (encore) déployé cette démarche.

3 - Veiller à la bonne information et formation de tous les agents, renforcer la formation au management de la sécurité de la ligne hiérarchique des laboratoires de recherche. Mettre en place un passeport individuel pour chaque agent dans lequel seront consignés sa formation, son suivi médical et son exposition aux risques prion.

Afin d'impliquer et de responsabiliser l'ensemble des acteurs il convient de former les chercheurs et la ligne hiérarchique aux questions de santé et sécurité au travail. Les besoins de formation étant pour partie équivalents entre les institutions de recherche, une mutualisation de ces formations pourra être recherchée. La formation générale et spécifique au poste de travail et le tutorat de l'ensemble des acteurs seront par ailleurs développés, et tracés dans un passeport. Celui-ci indiquera également les dates de visites médicales dont a bénéficié l'agent auprès du service de médecine de prévention / du travail et les expositions aux risques prions. Une attention toute particulière sera portée aux agents à contrat à durée déterminée. Le passeport n'habilitera les personnes à intervenir que dans les domaines sur lesquels portent les formations et tutorats.

4 - Favoriser l'animation de la communauté prion et pérenniser le travail collaboratif entre équipes en l'ouvrant à l'ensemble des acteurs.

La mission recommande la constitution d'un comité national Prion en charge de l'animation de la communauté scientifique mis en place par le ministère chargé de la recherche et réuni sous l'égide du CNR⁶ et du LNR⁷.

Il devra piloter la mise à jour du guide de bonnes pratiques (GBP) et des grilles d'audit afférentes (et vademecum). Ce comité devra être sollicité pour l'évaluation des risques et les actions de prévention à mettre en œuvre avant tout élargissement d'une technique nouvelle à d'autres équipes. Ce comité devra être en relation étroite avec les pilotes ministériels (un par ministère) du dossier que la mission propose de désigner également, ces pilotes pourront assurer le suivi du dossier devant les CHSCTM.

Pour assurer ces missions relatives à la sécurité, il devra constituer un groupe de travail composé de chercheurs, techniciens, animaliers et préventeurs issus des différentes équipes de recherche prion ainsi que des personnes désignées par les tutelles. Il prendra en compte les retours d'audit des équipes dans des délais assez courts, procédera à une actualisation des recommandations sur une base annuelle.

Il procédera à une veille internationale régulière et pourra faire des recommandations aux ministères pour la mise en place de réglementations de sécurité spécifiques à la recherche sur le prion, dont en premier lieu les règles qui doivent prévaloir à l'occasion de coupures ou piqûres avec du matériel biologique contenant ou susceptibles de contenir du matériel protéinopathique.

Le comité national Prion devra également organiser le colloque annuel sur les recherches prions dans lequel un temps significatif (une demie journée au moins) devra être consacré à la sécurité des recherches. Un budget devra être dédié à l'organisation de cet événement.

5 - Recommandations sur les modalités de la reprise d'activité à l'issue du moratoire : mettre en place des audits externes préalables à la reprise des activités de recherche et pérenniser ce dispositif.

Pour assurer la reprise sécurisée du travail, la mission recommande que tous les laboratoires fassent l'objet d'un audit sur la base d'une grille établie à partir du GBP, les résultats de cet audit étant présentés au président ou directeur général de l'organisme qui décidera (ou non) de la reprise des activités de l'équipe concernée après consultation du CHSCT local. Lorsque la reprise des travaux sera décidée, la mission préconise qu'elle se fasse après la tenue d'une réunion de la totalité de l'équipe présidée par un représentant au plus haut niveau de l'institution à laquelle elle appartient.

Dans l'optique d'une amélioration continue, les audits seront pérennisés dans une logique Assurance Qualité (audits internes et externes).

6 - Appliquer le principe 3R (réduire, remplacer, raffiner) au risque prion en déclinant ce principe à toutes les évaluations de techniques faites par les commissions scientifiques de sécurité et par le comité national Prion.

En particulier, l'inactivation à l'acide formique en immunohistologie doit devenir un réflexe et une règle générale, l'absence d'inactivation devant être justifiée dans le cadre d'une analyse bénéfice-risque. L'utilisation de la PMCA devrait également être évaluée avec cette vision 3R, puisque dans son principe même elle crée une quantité énorme de matériel infectieux. Dans ce cadre, il est également préconisé que la notion de * dans la catégorisation 3* des laboratoires soit retirée et que les laboratoires de recherche sur les prions fonctionnent en classe 3.

⁶ Cellule nationale de référence des maladies de Creutzfeldt-Jakob.

⁷ Laboratoire national de référence encéphalopathies spongiformes transmissibles.

7 - Assurer la traçabilité des expositions des personnels et mettre en place un suivi médical adapté. Consulter le comité d'éthique sur l'opportunité de rechercher les personnes exposées au risque prion par le passé. Étudier la possibilité d'organiser une veille épidémiologique au niveau national pour les travailleurs exposés aux prions infectieux.

La mission recommande que les personnes actuellement exposées au prion, fassent l'objet d'un enregistrement de leur exposition tout au long de leur vie professionnelle et que ces données les suivent toute leur vie ; la mission propose également qu'une étude d'opportunité et juridique soit réalisée pour la mise en place d'un dispositif de veille permettant d'identifier des cas possibles de variant de la maladie de Creutzfeldt-Jakob chez les travailleurs de la recherche. Le comité d'éthique sera consulté afin d'éclairer les décideurs sur l'utilité d'aller rechercher les personnes qui ont quitté leur poste dans le passé et ne sont plus actuellement exposées. A minima, ceux qui ont fait la démarche de reprendre contact avec leur ancien employeur pour se manifester devraient pouvoir se voir proposer cet enregistrement pour un suivi ultérieur et un accompagnement adapté.

8 - Explorer l'opportunité d'étendre les mesures de sécurité prion aux recherches sur les prion-like au potentiel protéinopathique pour l'humain.

Par analogie avec le monde des prions, la mission recommande que les modalités de sécurité et de gouvernance du secteur prion-like soient explorées, en englobant le champ large des protéinopathies. Pour cela la mission préconise de manipuler *a minima* ces protéines dans des laboratoires de confinement L2.

Introduction

La présente mission est une mission d'enquête, d'expertise et d'appui à un secteur de recherche touché par deux décès en France. Il ne s'agit pas d'une enquête administrative visant à rechercher des responsabilités.

Elle fait suite à un second cas possible de maladie de Creutzfeldt-Jakob chez une personne ayant exercé dans un laboratoire de recherche travaillant sur cette thématique. Le premier cas avait déclenché une première mission d'inspection dont le rapport⁸ a été rendu public par les ministres, le 28 octobre 2020. Pour ce second cas possible, au moment de la saisine de la présente mission, aucun accident ou incident de laboratoire n'était répertorié, laissant les possibilités de l'origine de la contamination très ouvertes. Face à ces incertitudes, un moratoire des recherches sur le prion a été décidé par les cinq organismes de recherche concernés et leurs ministères de tutelle.

Pour évaluer la situation et déterminer les conditions de sortie de ce moratoire, le conseil général de l'alimentation, de l'agriculture et des espaces ruraux (CGAAER) et l'inspection générale de l'éducation, du sport et de la recherche (IGÉSR) ont été saisis par un courrier commun des directeurs de cabinet des deux ministres concernés (ministère de l'alimentation et de l'agriculture et ministère de l'enseignement supérieur de la recherche et de l'innovation) en date du 27 septembre 2021. Les membres de la mission ont été désignés les 27 septembre et 8 octobre 2021.

La lettre de mission demande à ce que soient recherchées les causes qui, dans l'activité professionnelle de l'agent concerné, pourraient expliquer la contamination, et à explorer les questions scientifiques et techniques qui en découlent; elle invite également à s'appuyer sur l'audition d'experts scientifiques internationaux et à formuler des recommandations pour une sortie maîtrisée du moratoire.

La personne ayant présenté une symptomatologie compatible avec une vMCJ (que nous appellerons dans ce rapport agent A) est décédée pendant la mission, quelques jours avant le passage des inspecteurs sur le site ou elle avait travaillé pendant de nombreuses années.

La reprise des enregistrements des accidents et incidents déclarés à l'ENVT a permis de retrouver la trace de deux coupures anciennes (en 2004 et 2005) pouvant expliquer, pour l'une, une inoculation de prion d'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB). Cependant aucune certitude n'étant acquise, la mission a également exploré la possibilité d'autres voies de contamination. Elle a porté une attention particulière à l'évolution des techniques de recherche susceptibles d'induire des risques nouveaux ; ces techniques nouvelles sont potentiellement productrices d'aérosols en laboratoire de recherche.

La mission a entendu de nombreuses personnes, gouvernance, techniciens, chercheurs, animaliers, préventeurs, et s'est rendue dans le laboratoire actuel du site INRAE / ENVT (mais qui n'est plus celui dans lequel avait travaillé l'agent A) et dans des laboratoires de renommée internationale, en France et à l'étranger travaillant sur le prion.

Une des difficultés rencontrées par la mission a consisté à se replacer dans les conditions de connaissance et d'appréhension du risque de chacune des périodes explorées, celles-ci ayant évolué et continuant à évoluer. C'est la raison pour laquelle la mission propose des évolutions dans les modalités d'appréhension et de prévention du risque.

Des personnes entendues ont fait part à la mission de problématiques managériales dans l'équipe prion de Toulouse qui ne relèvent pas du champ de ce rapport.

Le périmètre de la mission s'est élargi au cours de l'audition des personnes du site INRAE / ENVT, du fait du lien étroit (physique et dans le temps) entre l'équipe de recherche (INRAE) et des aspects plus proches du diagnostic et de l'enseignement dévolus à l'ENVT. Même si la mission n'a pas travaillé spécifiquement sur les activités de diagnostic, elle se doit de repercuter les inquiétudes qui ont été exprimées autour de l'activité ENVT sur la période 1997-2004 (autopsie, anatomopathologie et lien avec le troupeau expérimental de l'INRA Langlade), jusqu'à l'intégration des activités de recherche dans l'unité mixte Interactions hôtes-agents pathogènes (IHAP).

⁸ Mission d'expertise de la sécurité dans les laboratoires de recherche sur les prions infectieux CGAAER, IGÉSR, septembre 2020.

La mission s'attachera dans le rapport à proposer une organisation dans laquelle recherche et sécurité se nourrissent de connaissances mutuelles et de regards croisés mais avec une ligne de décision propre à chacun des champs.

Les conditions de sortie du moratoire seront proposées ainsi que des recommandations touchant le court et le moyen termes.

Enfin, un point d'attention est porté sur les recherches sur les prions-like, que la mission n'a pu investiguer en profondeur compte tenu des délais impartis. À ce titre, la mission reprend les recommandations de la précédente mission sur le sujet⁹.

1. Le cas de possible contamination de l'agent A

1.1. Les hypothèses concernant la possible contamination de l'agent

Suite à l'annonce de la maladie de l'agent A, la recherche par l'INRAE et l'ENVT des déclarations d'accidents de travail et incidents de service pouvant expliquer une contamination n'a pas donné de résultat signifiant, ouvrant la voie à toutes les hypothèses et conjectures. Des hypothèses concernant les voies potentielles d'exposition ont ensuite été formulées par l'INRAE dans le cadre de son enquête interne, après avoir analysé les conditions de travail des années 2004 à 2015 et les méthodes de travail alors utilisées.

Ont été proposées des hypothèses de microcoupures, de blessures avec des matériels, de contaminations portées par des particules de paraffine ou de matériel infectieux projetés sur une muqueuse ou pouvant rester en suspension dans l'air quelque temps. Cette dernière hypothèse inquiétait particulièrement car allant à l'encontre d'un postulat (inscrit d'ailleurs dans l'arrêté du 30 juin 1998 modifiant l'arrêté du 18 juillet 1994 qui fixe la liste des agents biologiques pathogènes et classe les prions transmissibles à l'homme en classe 3* note h¹⁰) sur lequel est assise la protection contre le prion et qui veut qu'il n'y ait pas de transmission du prion par voie aérienne¹¹. L'hypothèse d'une contamination non liée au travail mais à la vague d'ESB que la Grande-Bretagne et d'autres pays ont connu dans les années 1996 à 2000 a également été évoquée, ce qui en pure hypothèse ne peut pas être exclu, mais apparaît extrêmement peu probable s'agissant d'une personne qui a travaillé pendant 10 ans au contact de prions dangereux pour l'humain (les 3 derniers cas de vMCJ dans le monde concernent du personnel de laboratoire).

Face à cette cause de contamination inconnue, les registres santé et sécurité de l'établissement hébergeur qu'est l'ENVT pour l'INRAE ont été repris depuis l'arrivée de l'agent sur son poste et cette recherche approfondie a permis de retrouver trace de deux coupures de l'agent A, une avec une lame de préparation histologique en septembre 2004 et l'autre avec la lame du microtome en avril 2005. Selon les recherches faites par l'équipe sur les fichiers d'enregistrement des échantillons, la première s'est produite avec du matériel de tremblante du mouton sans lien avec la vMCJ et la seconde s'est produite au cours d'une expérimentation dont le témoin positif était un témoin positif ESB manipulé la veille. La pratique, encore actuelle du laboratoire, est de ne changer la lame du microtome que lorsqu'elle est émoussée et pas après chaque échantillon, ni en fin de journée. La mission note également que l'échantillon n'avait pas fait l'objet

⁹ Mission d'expertise de la sécurité dans les laboratoires de recherche sur les prions infectieux CGAAER, IGÉSR, septembre 2020.

¹⁰ La note h précise qu'il « n'y a pas de preuve concernant l'existence chez l'Homme d'infections dues aux agents responsables des autres encéphalopathies spongiformes transmissibles (EST) animales. Néanmoins, les mesures de confinement des agents classés dans le groupe de risque 3* sont recommandées par précaution pour les travaux en laboratoire, à l'exception des travaux en laboratoire portant sur un agent identifié de tremblante du mouton, pour lequel le niveau 2 suffit ». Pour connaître le sens donné au symbole * associé à la classe 3, il faut se référer à l'arrêté du 30 juillet 1994 fixant la liste des agents biologiques pathogènes, qui précise que le symbole * « accolé à certains agents biologiques pathogènes (...) indique qu'ils peuvent présenter un risque d'infection limité car ils ne sont normalement pas infectieux par l'air ». L'article 3 de l'arrêté du 16 juillet 2007 fixant les mesures techniques de prévention, notamment de confinement, à mettre en œuvre dans les laboratoires de recherche, d'enseignement, d'analyses, d'anatomie et cytologie pathologiques, les salles d'autopsie et les établissements industriels et agricoles où les travailleurs sont susceptibles d'être exposés à des agents biologiques pathogènes précise que « pour les agents classés dans le groupe 3, affectés d'un astérisque dans la liste annexée à l'arrêté du 18 juillet 1994 modifié susvisé, normalement non infectieux par voie aérienne, l'évaluation des risques doit permettre de déterminer si la concentration ou la quantité des agents pathogènes incriminés et la nature des activités permettent de renoncer à certaines mesures de confinement spécifiques du niveau 3 ».

¹¹ Dans les conditions d'infection naturelle mais la mission abordera plus loin ce sujet des conditions naturelles versus les conditions de laboratoire.

d'un traitement à l'acide formique qui réduit l'infectiosité et qui est recommandé en histopathologie humaine. Une hypothèse est que la contamination ait pu se produire à cette occasion.

Ceci étant, l'analyse des conditions de travail de la période 2004-2015 et des échantillons traités par l'agent A – près de 67 500 échantillons dont plus de 5 000 de classe 3 – ne permet pas d'exclure d'autres contaminations par coupures non enregistrées ni d'autres hypothèses de contamination. C'est pourquoi, la mission préconise de procéder à une réévaluation de toutes les procédures de protection des personnels et des organisations qui vont avec, dans une logique de protection contre un danger qui ne se voit pas. À ce titre, l'analogie formulée par diverses personnes entendues avec les mesures de protection prises dans le monde de la radio protection est à relever.

1.2. Les conditions de travail au sein de l'équipe prion

Les travaux sur le prion étaient initialement réalisés dans l'équipe Agents transmissibles non conventionnels (ATNC) de l'unité mixte de recherche 959 INRA-ENVT qui a rejoint l'IHAP à sa création. Les conditions de travail ont beaucoup évolué au cours du temps notamment suite à des changements de locaux, l'introduction de nouvelles mesures de protection liées aux normes de biosécurité en général ou au fil des avancées des connaissances sur les risques engendrés par les prions.

1.2.1. Les locaux

À la fin des années quatre-vingt-dix, au moment de la crise sanitaire liée à l'encéphalopathie spongiforme bovine, les installations de l'ENVT tournées vers l'étude de la tremblante sont sollicitées pour travailler sur l'ESB. Dans la période 1997-2002 cette activité est réalisée dans la laboratoire historique du service d'anatomie pathologique situé dans le bâtiment 2-2 dans lequel les analyses histologiques pour la tremblante étaient réalisées.

En 2002-2003, ce laboratoire, isolé des autres activités de l'école, a été rénové mais ne disposait ni de filtration d'air ou de pression négative, ni de fenêtres hermétiques ou de sas avec portes asservies, et globalement ne correspondait pas, au moins de ce fait, à un laboratoire de classe 3. Certaines activités à risque se faisaient sous un des trois postes de sécurité microbiologique (PSM) du laboratoire, dont un était dédié à la microbiologie et les deux autres à la culture cellulaire ou sous sorbonne. Après la fusion des UMR 959 et 960 en 2003, la vérification des PSM et sorbonnes qui n'était pas réalisée auparavant a été assurée. Les témoignages recueillis indiquent que l'agent A n'avait pas de PSM dédié à son activité d'immunohistochimie et que les activités de découpe se faisaient hors PSM directement sur la paillasse.

En 2002, les programmes de recherche avec utilisation de modèles petits animaux (souris) ont démarré et nécessité des installations nouvelles. Ainsi, en 2004, un équipement dit bio-module a été installé dans un préfabriqué modulaire avec une partie animalerie et une partie laboratoire, cette dernière servant essentiellement aux inoculations et aux prélèvements. Il sera utilisé jusqu'en 2019.

1.2.2. Les équipements de protection individuelles (EPI)

La mission a basé ses analyses sur le recensement chronologique fait par l'INRAE sur ce sujet, mais en prenant ces informations comme des indications, les témoignages recueillis n'étant pas forcément concordants avec la chronologie reconstituée, ni toujours concordants entre eux¹². L'absence de consignes écrites ne permet pas d'avoir une certitude sur les consignes réellement données. Ces divergences peuvent s'expliquer par les modifications des souvenirs inhérents à des situations anciennes ou par le fait que certains EPI ont pu être introduits de manière non obligatoire au départ.

Ils sont maintenant constitués de sur-bottes ou de chaussures dédiées, d'une blouse en non tissé à usage unique jetable mais réutilisée sur la semaine si non visiblement souillée (pratique à réévaluer compte tenu du risque), de deux paires de gants (dont une à poignet long mais sans manchettes sous le PSM, ces dernières améliorant l'étanchéité de la jonction gant-blouse) et d'une paire de gants anti coupures pour les opérations identifiées comme le nécessitant, de lunettes de protection, d'un masque et d'une charlotte.

¹² Certains indiquant la mise en place d'une double paire de gants lors de la rénovation du bâtiment 2.2, donc en 2002, d'autres indiquant que la double paire de gant n'a été effectivement portée qu'en 2017 dans le nouveau A3.

Sur le début de la période recensée en 1997, seule la blouse, lavable selon certains témoins, était fournie. Les gants anti-coupures ont été mis en place fin 2020 car ils avaient été jugés trop contraignants avant et l'agent A a donc fait toute sa carrière d'histologie en portant une, puis deux paires de gants mais n'a jamais porté de gants anti-coupure. De même, il ne portait pas de lunettes de protection contre les projections qui ont été rendues obligatoires en 2018 pour le risque biologique.

Les grandes périodes de progrès dans le port des EPI correspondent à la rénovation du laboratoire de 2002 (2001 à 2005) et à la mise en service du L3 en 2017 : la nature de l'équipement de protection des agents reste stable jusqu'à la connaissance du premier cas de contamination qui relance la réévaluation des protections et aboutit, en décembre 2020, au port de gants anti-coupures et, en juin 2021, à la généralisation du FFP2 et au port de la visière dans les situations le nécessitant.

Ce type d'évolutions mérite maintenant d'être inscrit dans un cadre de procédures architecturées et versionnées pour en garder la trace écrite et doivent être expliqué à tous les agents concernés.

1.3. Le management de l'équipe

Une forte pression de travail et le manque d'information des agents. Les témoignages entendus par la mission sont concordants pour dire que le rythme de travail était particulièrement intense dans l'équipe prion. De nombreux agents rapportent qu'on ne leur a pas expliqué et mis en perspective leur tâche, ce qui rétrospectivement leur donne le sentiment qu'on « *leur a caché des choses* ». D'ailleurs, le rapport d'inspection d'hygiène et sécurité de l'ENVT recommande en 2008 de « *veiller en particulier à l'application des dispositions édictées par le code du travail, (quatrième partie, Livre III, titre II, chapitre III, section 9 : dispositions particulières pour l'utilisation des EPI et articles 4222-25 et 4222-26), notamment aux conditions d'information des agents, d'utilisation et de vérification des EPI lorsque les mesures de prévention collective sont insuffisantes* » et de « *veiller également à donner aux agents et au CHS les informations actualisées portant sur l'utilisation des agents chimiques ou biologiques dangereux (articles R. 4412-38, R. 4412-39 et R. 4425-6 code du travail)* ».

Les modalités de prise en compte par les responsables scientifiques des préoccupations concernant la sécurité exprimées par les agents sont controversées et sont évoquées comme source de tensions et motifs de départ par plusieurs anciens agents ayant exercé au sein de l'équipe à différentes périodes.

Un certain nombre de témoignages recueillis vont dans le sens d'une atténuation de la perception du risque au sein de l'équipe et d'une culture où la nécessité du gain de savoir a pu prendre le pas sur d'autres contingences. Les témoignages recueillis montrent aussi que la perception du risque et le respect strict des procédures se renforcent avec l'aménagement dans les locaux à un niveau de risque 2 et encore plus 3. La mise en service du nouveau laboratoire en 2016 a certainement permis d'améliorer les procédures. Le décès de l'agent A a provoqué une prise de conscience d'un certain nombre de risques dans cette équipe.

1.4. Les certitudes et les incertitudes sur l'exposition au risque prion

Une coupure de l'agent A, avec une lame de microtome qui avait possiblement également coupé un témoin positif ESB la veille est intervenue en avril 2005. Le délai entre cette coupure et l'apparition des symptômes est de 16 ans et, bien que supérieur au délai d'incubation probable observé dans le cas survenu à Jouy, se situe dans la fourchette d'incubation de la maladie. Les essais en laboratoire sur les modèles animaux montrent qu'en diminuant la quantité inoculée on augmente la durée d'incubation de la maladie et que la voie d'inoculation joue également sur la durée d'incubation. Un délai long d'incubation avec une dose inoculante faible et très périphérique est donc plausible.

Cependant, l'agent A n'a déclaré que ces deux coupures à quelques mois d'écart en dix ans de travail au microtome et uniquement au début de son activité histologie dans l'unité prion. Comme évoqué précédemment, il n'a jamais porté de gants anti-coupures. Il est plausible qu'il ait été victime d'autres micro-coupures qu'il n'a pas signalées car considérées comme faisant partie de la routine en histologie avec les lames de microtome. Plusieurs témoignages indiquent, par ailleurs, que la culture de la déclaration de l'accident du travail semblait peu portée au sein de l'équipe.

Au moins une personne se souvient avoir été témoin d'une autre coupure de l'agent A pendant la recoupe des tissus. L'agent avait alors appliqué la procédure de décontamination qui consiste à tremper son doigt dans l'eau de javel pendant une demi-heure, ce qui suggère que l'agent pensait que le tissu en question comportait un agent infectieux transmissible à l'humain.

Cependant, d'autres voies de contamination ne peuvent pas être exclues :

- une projection sur une muqueuse (projection oculaire ou sur une muqueuse buccale). Les lunettes et visières n'ont été rendues obligatoires qu'en 2018 donc trois ans après le départ à la retraite de l'agent A. En effet, le port de masque n'était préconisé que pour la manipulation de produits chimiques, et le port systématique du FFP2 n'est apparu qu'en 2020. Le travail au microtome provoque la production de nombreux débris de paraffine auxquels peuvent être collés des microparticules de tissus infectieux ;
- la voie de portage aérienne, sans même parler de vrais aérosols, doit être réévaluée. En effet la faiblesse de la dose inoculante mise en évidence par voie intra dermique sur les primates¹³ montre que de fines particules peuvent être infectieuses ;
- la voie de propagation du prion dans l'organisme peut se faire par des cellules sanguines, de la lignée blanche notamment, mais également par une conduction nerveuse centripète qui va des extrémités nerveuses vers le système nerveux central. Il ne serait ainsi pas nécessaire d'avoir une diffusion sanguine pour que la contamination se fasse. Ces situations demandent à ce que le risque de contamination par voie muqueuse (micro particules de tissus histologiques sur les muqueuses oculaires, respiratoires ou buccales) soit réévalué ;
- la voie aérosol n'est pas à exclure même si elle ne fait pas l'objet d'un consensus scientifique. La technique *prion protein misfolding cyclic amplification* (PMCA) a été mise au point alors que l'agent A était encore en activité, et bien qu'il ait été dit à la mission qu'il ne travaillait pas dans la pièce où la PMCA était pratiquée, l'absence de travail sous hotte ou PSM pour cette technique et l'absence de données sur la contamination autour des appareils avec cette technique laissent cette possibilité ouverte. L'hypothèse de production de particules infectieuses par l'utilisation de ribolyseurs ou de centrifugeuses qui peuvent produire des aérosols n'est pas non plus à exclure. Les risques liés à ces pratiques doivent également être réévalués pour en déduire un ajustement des bonnes pratiques nécessaires. Une réunion des chefs d'équipe français en 2019, suite au premier cas de contamination, avait abouti à la nécessité de cette évaluation de la contamination de l'environnement par la technique PMCA mais cela n'a pas débouché sur des travaux mis en commun entre laboratoires la pratiquant.

2. L'équipe « Prion »

L'UMR 959 *Pathology of infectious and parasitic diseases of ruminants* dans laquelle se trouvait l'équipe « agents transmissibles non conventionnels » (ATNC) travaillait sur de nombreux sujets : mycoplasme ovine, pathologie de la mamelle ovine, influenza aviaire, parasitologie, tremblante ovine etc. Le sujet de la tremblante est un sujet historique pour l'ENVT et lié à l'implantation de l'école dans le Sud-Ouest de la France ; cette maladie affecte les troupeaux ovins de nombreux pays et dans la zone d'influence de l'ENVT, historiquement, les troupeaux ovins du rayon de Roquefort et du Pays Basque. En 1996, le lien fait entre l'ESB et le vMCJ dans l'espèce humaine a induit le besoin d'études sur le prion de l'ESB et la nécessité, pour les pouvoirs publics, de s'appuyer sur une expertise forte dans la lutte, puis l'éradication, de l'ESB qui démarre dans l'espèce bovine, et dans les mesures à prendre dans toute la filière alimentaire pour éviter la transmission de l'ESB à l'homme par voie alimentaire. L'équipe ATNC de Toulouse est donc fortement sollicitée par le ministère de l'agriculture sur ces sujets nouveaux et devenant zoonotiques.

En 2003, l'unité mixte INRA-ENVT 1225 interaction hôtes - agents pathogènes (IHAP) est créée au sein de laquelle est constituée l'équipe Encéphalopathies spongiformes transmissibles, pathogénèse (ESTP) qui a été renouvelée depuis lors avec, à sa tête, le même chef d'équipe.

¹³ J. Mikol, J. Delmotte, D. Jouy, et al. Direct neural transmission of vCJD/BSE in macaque after finger incision. *Acta Neuropathol*141, 119–122 (2021). <https://doi.org/10.1007/s00401-020-02231-w>

L'équipe ESTP est actuellement constituée de chercheurs INRAE, d'enseignants-chercheurs de l'ENVT, de techniciens dont une correspondante qualité sécurité, d'animaliers encadrés par une responsable d'équipe et un enseignant vétérinaire responsable bien-être animal (BEA), et une équipe qualité et sécurité pour l'ensemble du site ENVT / INRAE avec ses différentes UMR et équipes. L'INRAE possède également un dispositif de préventeurs pour certains attachés au centre INRAE de Toulouse et pour d'autres au niveau national.

La composition de l'équipe constituée autour d'un noyau stable très lié a beaucoup fluctué au cours du temps. INRAE et ENVT ont fourni à la mission une liste de 67 personnes supposées avoir travaillé ou travaillant encore dans l'équipe prion de l'IHAP pour des durées plus ou moins longues. La mission a apporté un certain nombre de corrections à cette liste sur la base des données qu'elle a pu recouper. Les corrections portent notamment sur des personnels qui ont travaillé dans d'autres unités de recherche sur le campus et pas dans l'équipe Prion ou d'oublis de personnels contractuels.

2.1. L'exposition aux risques des agents de l'équipe

Le danger prion concerne toutes les catégories de personnel de l'équipe. Selon les manipulations, le risque est plus ou moins important mais difficile à apprécier compte tenu de la variabilité de la pathogénicité des souches qui est imprévisible mais qui, dès que l'on franchit la barrière d'espèce, doit être considéré comme extrêmement important et ce quelle que soit l'espèce cible.

L'inoculation intracérébrale d'agrégats de prions présente un risque élevé en cas de piqûre accidentelle et de projection. À présent, seul le responsable de l'équipe ESTP pratique les inoculations à risque, ne laissant pas aux autres (y compris les chercheurs) le soin de le faire. Cependant, si ce risque se concentre sur une seule personne, cela ne l'annule pas pour autant. Les autres chercheurs assistent le responsable d'unité et sont également soumis au risque mais dans une moindre mesure et seulement en cas de faux mouvement ou de projection toujours possibles malgré le type de seringues sécurisées utilisées. Cependant dans les témoignages d'anciens membres de l'équipe, il apparaît qu'à une époque plusieurs personnes ont pu pratiquer des inoculations intracérébrales.

Certains chercheurs pratiquent également la PMCA qui doit être considérée (cf. ci-dessous) comme une pratique à risque majeur car le principe consiste à augmenter de manière exponentielle l'infectiosité d'un échantillon pour la révéler ensuite. Cette technique favorise également la production d'aérosols puisqu'elle utilise la sonication qui, par nature et quelles que soient les précautions prises, peut provoquer des aérosols. La maîtrise de ces aérosols est donc fondamentale. La mission en conclut que le postulat selon lequel le prion ne se propage pas par voie aérienne, et qui est sans doute fondé pour la maladie naturelle tremblante ou ESB pourrait être battu en brèche dans certaines situations expérimentales.

Les chimères produites par les passages de barrière d'espèce constituent également un risque important et représentent une part importante des expériences menées dans l'équipe. La notion de souche de prion est une notion différente de celle que l'on peut connaître en microbiologie classique. En effet, un prion résistant (PrPres) aux protéases qui se développe dans un organisme, va au moins être dépendant de l'espèce voire de l'individu hôte (variabilité génétique), mais aussi de la conformation spatiale de la protéine résistante qui a initié la maladie protéique. La conformation spatiale de la PrPres produite dans l'individu receveur est pathologique mais pourra être différente de celle de la protéine inductrice et si on la transmet à une autre espèce ou en reverse à l'espèce initiale ne va pas produire forcément la même souche. Ce phénomène est ensuite compliqué par la notion de nuage de souche, qui fait que l'introduction d'une PrPres dans un organisme peut provoquer plusieurs lignées de PRPres qui peuvent se développer à des vitesses différentes et être en compétition. Le comportement d'une souche dont la barrière d'espèce est forcée est totalement imprévisible et peut aboutir à créer des souches universelles, ou comportant des caractéristiques incertaines. Le travail sur ces franchissements de barrière d'espèce mérite donc une évaluation et un contrôle a priori très sérieux permettant d'évaluer l'intérêt de le mener par rapport aux risques qu'il engendre.

Les techniciens et chercheurs sont aussi soumis au risque chimique (nombreux solvants, colorants acides et formol utilisés en histologie) mais ce risque est maintenant bien connu et sa maîtrise s'est nettement améliorée au sein de l'équipe. Cependant, des témoignages indiquent que le fait de vivre avec a pu conduire,

à une époque, l'encadrement à le sous-estimer, notamment en ne prenant pas suffisamment de mesures pour protéger des femmes qui démarraient une grossesse.

Les membres de l'équipe sont également soumis au risque de piqûre (déjà évoqué lors de l'analyse des hypothèses de contamination de l'agent A) et coupure, mais le poste d'histologie avec le microtome et ses déclinaisons est particulièrement exposé. Des gants anti coupures ont récemment été mis en place sur ce poste de travail, obligeant à revoir les séquences de travail, compte tenu des contraintes induites. Malgré ces précautions, une coupure au microtome s'est produite très récemment lors de la dépose du bloc, heureusement avec une lame non contaminée ; le protocole lors de la manipulation durant laquelle la coupure s'est produite, a été respecté. **À ce propos, il est à noter que, de tous les pays qui ont fait l'objet d'un parangonnage par la mission, la France est le seul qui ne préconise pas de faire saigner la plaie en cas de coupure** ; cette situation proviendrait de l'application au risque prion d'une circulaire de la direction générale de la santé (DGS) sur les inoculations avec du matériel biologique humain qui prend en compte essentiellement le risque VIH et que certains estiment inadapté au risque prion. Il apparaît donc nécessaire que le ministère en charge de la recherche en lien avec les scientifiques du domaine s'empare de ce sujet pour, soit faire modifier la circulaire en cause, soit édicter une circulaire spécifique au prion de même niveau que celle portant sur le VIH. Pour ce faire, il convient d'engager une réflexion pour définir la procédure la plus efficace.

Les animaliers sont au contact répété et prolongé d'animaux sains et d'animaux contaminés. Ils revêtent des EPI et travaillent sous des postes adaptés ; cependant les animaux sont contaminés avec des souches dont on ne peut prévoir à l'avance le comportement de manière systématique (c'est le propre des essais). Ils peuvent être soumis parfois (rarement mais cela arrive) à des morsures ; même si la concentration de prion dans la salive est extrêmement faible (mais sans doute variable selon les souches de prion et selon l'espèce hôte) elle doit faire l'objet d'une attention particulière. Par ailleurs, des programmes de recherche sur la maladie du dépérissement chronique des cervidés se préparent ou sont engagés et la transmission inter-individus de ce prion est une réalité à travers divers fluides biologiques (salive, sang, urine). Les conditions de travail et de formation des personnels en animalerie doivent être évaluées au regard de ces éléments.

2.2. L'environnement de l'UMR

Comme la mission l'a déjà évoqué, le sujet de l'ESB a pris de l'importance en France et dans le monde en 1996 lorsqu'un lien a été fait entre ESB bovine et vMCJ humaine¹⁴. Très vite l'ENVT et son service de pathologie du bétail, (avec la clinique ambulante, le service de ramassage des cadavres pour autopsie, la salle d'autopsie préexistante et ensuite son activité de centre de référence pour l'ESB) a été en pointe sur ce sujet et de nombreuses activités de clinique et de recherche appliquée ont été menées entre 1996 et 2002-2003 avec les conditions de protection de l'époque qui étaient assez réduites. Rétrospectivement, ces conditions de travail inquiètent beaucoup les anciens techniciens et résidents des services concernés : service anatomie pathologie, service pathologie du bétail mais peut-être d'autres également. Un travail de reconstitution d'un historique des animaux positifs à l'ESB passés par l'école et des personnes qui ont pu travailler dans ce domaine serait de nature à circonscrire le périmètre des personnels potentiellement concernés et d'atténuer les inquiétudes.

Il est également important de prendre en considération l'exposition des agents lors des activités de recherche qui ont été conduites dans l'UMR 959 avant la création de l'IHAP et de l'équipe ESTP dont plusieurs anciens personnels ont contacté la mission.

2.3. L'organisation de l'hygiène et sécurité au sein de l'ENVT et les relations avec l'INRAE

Une convention¹⁵ cadre de coopération scientifique a été signée entre l'INRA et l'ENVT pour la période 2016-2020. Dans ses dispositions générales, le paragraphe 7.1 traite de la santé, de la sécurité et d'environnement. Il y est indiqué que la mise en œuvre des dispositions législatives et réglementaires incombe « au chef d'établissement d'accueil pour la sécurité générale liée à l'infrastructure, au directeur

¹⁴ <https://www7.inra.fr/dpenv/vchfol00.htm#farf>

¹⁵ Les établissements nous ont indiqué qu'elle était en cours de renouvellement.

d'unité pour les risques propres à l'activité de recherche. Toutefois chaque partie reste responsable en tant qu'employeur de la sécurité de ses agents ».

L'annexe 1 de la convention vient compléter ces dispositions pour les UMR. Dans cette annexe, le paragraphe 4 est consacré aux questions de santé et sécurité au travail, protection des personnels, des biens et de l'environnement. Il y est prévu notamment des visites communes de locaux par les conseillers de prévention, un devoir d'information mutuelle. Il précise également que les assistants de prévention exercent leur mission en lien avec le conseiller de prévention (CP) de la partie hôte, que les deux comités d'hygiène, de sécurité et des conditions de travail (CHSCT) peuvent siéger en formation conjointe, que le conseiller de prévention hébergé est invité au CHSCT de l'hôte, que le directeur de l'UMR veille au respect des règles et procédures de prévention et de sécurité, que chacune des parties peut intervenir pour s'assurer des conditions de sécurité dans lesquelles travaillent ses agents.

Conformément au décret 82-453 modifié relatif à l'hygiène et à la sécurité du travail ainsi qu'à la prévention médicale dans la fonction publique, les deux établissements bénéficient du concours d'un conseiller de prévention et d'un réseau d'assistants de prévention (notamment un assistant de prévention pour l'UMR IHAP et un pour le laboratoire prion). Il est à noter que le CP de l'ENVT est en arrêt depuis de nombreux mois.

Le document unique d'évaluation des risques de l'équipe prion est réalisé selon le modèle INRAE.

Le médecin du travail et l'inspecteur santé et sécurité au travail couvrent chacun le périmètre des deux employeurs. Dans le passé, de nombreuses problématiques de coordination ont été soulignées par l'inspecteur de santé et sécurité au travail.

Ainsi, dans son rapport de mars, avril juillet 2008 il indique que « La présence d'Unités mixtes de recherche (UMR), composées de personnels du ministère de l'Agriculture et de la pêche et de personnels de l'INRA, pose la question de la délimitation claire des champs de responsabilité en matière d'hygiène et de sécurité vis à vis des communautés de travail et des interactions entre les institutions INRA et ENVT.

Ainsi, certains éléments pouvant garantir la préservation de la santé et de la sécurité des agents sont absents. À titre d'exemple citons la gestion relativement autonome et peu rigoureuse des équipements des UMR et de leur maintien en état de conformité, sur lesquels l'ENVT n'exerce pas de droit de regard. »

Il souligne, en guise de conclusion, « que la direction de l'ENVT doit avoir une conscience accrue de ses responsabilités dans le domaine de l'hygiène et la sécurité et, qu'en raison des spécificités de cette institution, l'ensemble de la chaîne hiérarchique, y compris au sein de la communauté éducative, ne doit pas méconnaître les principes juridiques qui s'imposent à eux dans l'exercice de leurs fonctions, comme le précisent les trois articles du code du travail ci-dessous mentionnés qui définissent les principes de responsabilité de l'employeur et de tout travailleur. »

2.4. Les autres équipes de recherche travaillant sur le prion en France

La mission a été amenée à rencontrer quatre autres équipes en France hébergées dans trois structures différentes. Il s'agit :

- de la cellule nationale de référence des maladies de Creutzfeldt-Jakob (CNR) de l'hôpital de la Pitié-Salpêtrière ;
- du laboratoire national de référence encéphalopathies spongiformes transmissibles (LNR) à l'agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES) de Lyon ;
- du commissariat à l'énergie atomique et aux énergies alternatives (CEA) avec deux équipes, une qui travaille sur les prions et une autre sur des prion-like.

Ces équipes ont en commun d'avoir mis en place des systèmes d'assurance qualité, différents selon les organismes, mais qui tous leur imposent une rigueur dans la définition des règles et leur respect (obligation de tracer, de versionner les consignes et de prouver leur application à un auditeur). Ainsi, à la demande de Santé publique France, le CNR s'est tourné vers l'accréditation ISO 9001, le LNR vers la norme ISO 17025 pour son activité de diagnostic pour le compte du ministère en charge de l'agriculture, et le CEA applique ses

propres protocoles qualité-sécurité issus des exigences du nucléaire. Dans tous les cas, les dispositifs de sécurité et leur application sont attestés par un acteur extérieur et les responsables de laboratoire y trouvent un intérêt certain.

Dans les trois laboratoires, ces dispositions se traduisent par l'existence d'une personne en charge des aspects qualité sécurité, qui, pour ces aspects, n'est pas soumise à l'autorité du chef d'équipe ou d'unité de recherche :

- au CNR, un ingénieur qualité et sécurité est également agent de prévention de l'équipe, il assiste et conseille le directeur d'équipe. De par son cursus – il est ancien doctorant de l'équipe – il connaît bien les problématiques liées au travail de recherche au plus près de leur pratique. Le CNR est en cours d'accréditation. Il a mis en place le processus ainsi que les audits internes et prépare les audits externes ;
- au LNR, c'est un même type de profil – ancien doctorant – qui est le chargé d'expertise hygiène et sécurité prions de l'équipe. Le LNR est accrédité par le Comité français d'accréditation (COFRAC) ;
- au CEA le directeur d'unité a un adjoint qui est chef d'installation et rattaché, à ce titre et sur ces aspects, directement au directeur du centre. Le CEA a déployé un protocole de sécurité et d'accréditation lié à ses activités dans le domaine du nucléaire, mettant en avant la nécessité d'une ligne qualité et sécurité indépendante des aspects directement liés à la recherche, et la nécessité, sur tous les aspects critiques, de disposer de procédures redondantes en matière de sécurité avec des systèmes indépendants les uns des autres.

Ces trois systèmes fonctionnent manifestement bien, générant une vraie réflexion en amont sur les questions de sécurité qui les a tous amené à renoncer à certaines techniques ou certaines expériences en considérant qu'elles apportent un danger supérieur au gain de connaissance escompté. Dans le domaine du prion, cette réflexion sur le bénéfice / risque d'une expérimentation a fait partie de chacun des entretiens avec ces trois structures.

La mission n'a pas trouvé l'équivalent de cette organisation au sein de l'équipe prion de l'UMR 1225. Celle-ci devrait mener une réflexion sur son organisation sécurité et santé au travail et ses liens avec la fonction recherche dans ses aspects managériaux d'une part et ses aspects qualité d'autre part. Cette question sera abordée dans le chapitre 5.1.4.

3. Le parangonnage avec des laboratoires étrangers

La recherche sur les agents infectieux transmissibles non conventionnels initialement confidentielle s'est développée de manière importante à la fin des années quatre-vingt-dix avec l'identification du prion comme vecteur de l'encéphalopathie spongiforme bovine à l'origine d'une crise sanitaire principalement en Grande-Bretagne et en Europe. Dans l'urgence, de nombreux laboratoires ont été mobilisés pour réaliser les diagnostics mais aussi développer la recherche sur ce sujet. Au fil du développement des connaissances la pathogénicité des prions a été classée et des réglementations mises en place, essentiellement pour le diagnostic humain et animal laissant dans la plupart des pays les chercheurs identifier les mesures de sécurité adaptées à leurs travaux. Ainsi, la mission a pu constater une grande variabilité de la réglementation en matière de sécurité prion entre les pays notamment s'agissant des modalités de confinement. La mission a pu ainsi constater au travers des visites et des entretiens qu'elle a menés des pratiques de sécurité très variables entre laboratoires et ce, y compris à l'intérieur de chaque pays.

3.1. La communauté scientifique internationale

Les décès liés à la maladie de Creutzfeldt-Jakob de personnes ayant travaillé dans des laboratoires de recherche ont secoué la communauté scientifique du Prion qui demande à comprendre les causes de ces décès, ce qui l'amène à s'interroger sur ses pratiques. Ainsi, au cours de la dernière réunion début décembre du congrès ibérique sur le prion qui rassemble une partie de la communauté scientifique européenne et britannique, une table ronde a été consacrée à la biosécurité dans la recherche liée aux prions¹⁶.

La mission s'est rendue dans deux pays européens, l'Italie et l'Espagne, qui ont ouvert la porte de leurs installations de recherche et ont longuement échangé avec elle. La mission a également étudié l'organisation retenue dans deux autres pays (les États-Unis et la Grande-Bretagne).

Elle tient aussi à attirer l'attention sur l'organisation retenue en Belgique, où, dans une approche *OneHealth*, une seule institution regroupe les activités de santé publique humaine et animale. Cette institution gère un serveur qui regroupe toutes les informations sur la biosécurité, le « Belgian biosafety server »¹⁷ (voir annexe).

L'annexe 7 est dédiée à ce parangonnage dont les principaux constats sont repris ci-dessous.

3.2. Les directives européennes

La directive 2000/54/CE du parlement européen et du conseil du 18 septembre 2000 concernant la protection des travailleurs contre les risques liés à l'exposition à des agents biologiques au travail classe le prion comme agent à risque de niveau 3 à l'exception de la tremblante du mouton. Il est précisé que du fait de l'absence de transmission aéroportée c'est aux États membres d'évaluer « *les mesures de confinement à appliquer à ces agents biologiques compte tenu de la nature des activités spécifiques en question et de la quantité de l'agent biologique concerné, en vue de déterminer si, dans des circonstances particulières, il peut être renoncé à certaines de ces mesures* ».

3.3. La situation en Italie

En Italie, la réglementation nationale impose une demande d'autorisation préalable aux laboratoires souhaitant réaliser des recherches sur les prions chez l'animal. D'après les interlocuteurs de la mission, seuls les laboratoires réalisant du diagnostic développent également des activités de recherche.

À la suite du développement de la maladie de Creutzfeldt-Jakob chez un personnel de laboratoire, le ministère de la santé a organisé une large concertation associant toutes les catégories de personnels sur les méthodes de travail et la sécurité dans les laboratoires relevant de la santé vétérinaire. Il a abouti à la réalisation d'un document synthétique qui présente les risques liés aux prions et les mesures de sécurité qui peuvent être prises en les hiérarchisant. Ce guide, non contraignant, vise la structuration de la sécurité de la conception du laboratoire, jusqu'aux pratiques de manipulation expérimentale et le démantèlement.

La mission a échangé avec une représentante du ministère de la santé en charge des affaires vétérinaires et avec les membres des deux laboratoires italiens qui, en consortium, forment le laboratoire européen de référence, l'*Istituto superiore di sanità* de Rome et l'*Istituto zooprofilattico sperimentale* de Turin, dont elle a aussi visité le laboratoire.

Il en ressort l'importance d'associer toutes les parties prenantes à l'évaluation des risques pour assurer une couverture complète de toutes les situations qui exposent les agents et trouver les solutions de protection les plus adaptées. Celles-ci peuvent varier en fonction des expériences mais aussi en fonction de la configuration des laboratoires dont l'aménagement doit être pensé pour être ergonomique et adapté aux usages. Aussi, il est considéré que le respect des pratiques de laboratoire est plus important que le niveau de confinement.

Les laboratoires de Turin sont organisés en pièces dédiées dont l'accès est contrôlé par badge. Elles sont vitrées permettant de voir depuis l'extérieur la quasi-totalité de l'espace. Les laboratoires ne sont pas en dépression, ils sont accessibles par un petit sas au sein duquel les agents doivent s'équiper. Les postes sont

¹⁶ <https://www.iberianprion2020.com/program.html>

¹⁷ <https://www.sciensano.be/fr>

équipés de tout le matériel nécessaire pour limiter les déplacements et organisés en mode « marche en avant » en fonction des expériences qui y sont menées. À noter que tous les échantillons destinés à l'histopathologie sont désactivés dans un bain d'acide formique à l'instar des autres bains de traitement des échantillons post-fixation. Ce bain est remplacé quand il est saturé. Les déchets ne sont pas autoclavés mais envoyés directement à l'incinération.

3.4. La situation en Espagne

Un groupe de travail a été lancé récemment pour réviser les procédures dans tous les laboratoires espagnols qui travaillent sur le prion. Il s'agit d'une initiative collective entre équipes, avec participation des personnels de terrain et des directeurs de laboratoire. Les réunions se tiennent en visioconférence. Ce groupe de travail a constaté des divergences entre les pratiques : certains ne mettent pas la visière pour couper en histopathologie, voire même pas de gants.

La mission s'est rendue au *Centro de investigación en sanidad animal du Instituto nacional de investigaciones agrarias* (CISA-INIA). Ce centre situé à l'extérieur de Madrid, dispose d'un bâtiment de niveau de sécurité 3 qui regroupe des laboratoires dédiés à des recherches sur des agents infectieux.

Le centre dispose d'un bureau de la sécurité biologique qui s'occupe d'écrire tous les documents définissant les procédures de sécurité biologique, lesquels sont révisés *a minima* sur une base annuelle. Ils sont élaborés en concertation avec les chercheurs avec des réunions sur la biosécurité en général et d'autres spécifiques aux prions. Les procédures sont généralistes et n'entrent pas dans le détail des protocoles expérimentaux mais s'imposent à tous : le chercheur doit signer un engagement au respect de ces règles pour chaque expérience.

Les agents suivent une semaine de formation sécurité biologique générale suivie d'une semaine de formation sécurité Prion spécifique pour chaque technique. Les nouveaux arrivants ne peuvent pas se déplacer seuls dans le laboratoire pendant au moins dix jours, au cours desquels ils sont accompagnés.

L'entrée et la sortie de l'espace de niveau 3 sont sécurisés et aucun objet qui y entre n'en ressort. Après un passage au vestiaire les agents passent par un sas dans la « tenue dans laquelle ils sont venus au monde » avant de se rhabiller avec des vêtements et chaussures dédiés. Ils peuvent alors accéder aux couloirs qui desservent les animaleries et laboratoires mais aussi à une pièce de détente.

L'accès à chacun des laboratoires est sécurisé par un badge et selon les activités qui s'y déroulent les agents doivent revêtir les équipements de protection individuelle nécessaires : blouse jetable, surchausses, gants, lunettes ou masques de protection.

Chaque laboratoire est dédié à un pathogène et à une technique et organisé en mode « marche en avant ». Des boîtes de transport sont prévues pour déplacer les échantillons entre les pièces avec des mesures de sécurité formalisées.

Les règles de sécurité imposées qui sont généralistes peuvent conduire au renoncement de certaines expériences mais le plus souvent à la recherche de protocoles alternatifs permettant leur respect. Elles sont bien acceptées car considérées comme protectrices par le directeur ainsi que par les agents qui se sentent en sécurité.

3.5. La situation en Grande-Bretagne

L'organisation de la biosécurité prion en Grande-Bretagne repose sur un comité consultatif pour les agents pathogènes (ADCP) qui élabore des guides de la biosécurité généralistes mais aussi des directives spécifiques Prion enrichies au fil du temps. Un sous-groupe dédié aux EST a fonctionné jusqu'en 2019 et tous les travaux ont été confiés au comité principal de l'ADCP en tant que point permanent de l'ordre du jour. Il a été réactivé en 2021 en raison de l'inquiétude qu'a suscitée la survenue de maladies de Creutzfeldt-Jakob chez des personnels de laboratoires de recherche en Europe.

Des travaux ont été conduits pour mettre à jour les directives, qui ont été publiées en novembre 2021, et abordent pour la première fois la distinction entre les tissus ou fluides du système nerveux central et les échantillons de recherche qui contiennent de hautes concentrations de prions qu'ils soient obtenus *in vivo*

ou *in vitro*. Il aborde aussi le cas particulier de certains prion-like pouvant constituer un danger pour l'humain désignés avec les termes « dépôts protéopathiques ».

L'annexe dédiée au parangonnage détaille les modifications les plus importantes que la mission a relevées. En particulier, les prions non caractérisés sont classés en niveau 3 par mesure de précaution. **La mission considère pour sa part qu'en recherche cette approche doit s'appliquer aussi aux prions générés au sein des laboratoires par des expériences de passages de barrière d'espèce qui peuvent avoir des caractéristiques nouvelles.** Le niveau de confinement conseillé reste le niveau 3 et le niveau 4 n'est pas envisagé.

Parmi les équipements de protection individuelle, figurent les gants avec le port de gants adaptés quand des instruments tranchants sont utilisés. Pour se protéger des projections, une protection des yeux ou une visière doivent être portées ainsi que des blouses hydrofuges ou un tablier plastique jetable par-dessus la blouse.

Chaque utilisation de tranchant doit faire l'objet d'une évaluation des risques spécifique.

Les recommandations de conduite en cas d'accident avec inoculation diffèrent de celles pratiquées en France : il est recommandé d'inciter au saignement par un doux lavage avec de l'eau tiède savonneuse et de ne pas frotter, de même que toute contamination de la peau doit être éliminée avec de l'eau savonneuse. Il est recommandé de ne pas utiliser de désinfectants sur les coupures ou la peau abîmée car ils sont susceptibles d'aggraver la blessure et d'interférer avec la réaction de défense locale du corps.

3.6. La situation aux États-Unis

La réglementation de biosécurité aux États-Unis est déléguée au *National institute of health* (NIH). Elle impose aux universités de se doter d'instances dédiées à la biosécurité. Concernant les mesures spécifiques aux prions, le NIH recommande d'immerger les tissus suspects d'être contaminés dans l'acide formique à 96 % ou phénol pendant 30 minutes avant les traitements en histopathologie tout en précisant que cela peut entraîner des altérations microscopiques en neuropathologie et pourrait ne pas abolir totalement l'infectiosité des échantillons.

Concernant le niveau de confinement pour la manipulation de tissus EST, il recommande une approche prudente de manipulation avec un niveau de sécurité des locaux de niveau 2 mais avec des pratiques de niveau 3. Au sein des établissements, la responsabilité de la biosécurité est déléguée au responsable d'équipe (*principal investigator*) qui peut s'appuyer sur l'expertise du bureau de biosécurité.

4. Les éléments de la maîtrise du risque

La variabilité des conditions matérielles et organisationnelles rencontrées par la mission dans les différents laboratoires de France ou étrangers montre que la sécurité pour les personnes de la recherche sur les prions dépend sans doute d'abord de la capacité à évaluer le risque, de la qualité des procédures mises en place en amont et de leur respect. Plusieurs laboratoires visités bénéficient par ailleurs d'un système de management de la santé et la sécurité solide lié à leur environnement particulier qui aboutit à une séparation des lignes hiérarchiques recherche et sécurité. C'est le cas du CEA avec son organisation issue du nucléaire et du laboratoire CISA de Madrid qui bénéficie de l'action du service support « prévention du risque biologique » mis en place sur le site, lequel conduit des recherches sur des maladies contagieuses¹⁸.

Les mesures de confinement sont également variables selon les laboratoires visités.

La mission a pu constater que la technique de la PMCA, qui amplifie considérablement la charge infectieuse de l'échantillon, fait l'objet d'une forte attention de la part de la majorité des équipes.

Globalement la démarche de réduction des risques prend en compte dans ces laboratoires des éléments matériels et immatériels (procédures, organisation chaîne hiérarchique, formation aux risques). Chacun de ces laboratoires a construit, avec des outils différents et adaptés à son environnement, un système sécurisé.

¹⁸ Fièvre aphteuse, pestes porcines, etc.

Ces observations soulignent, l'importance de compléter les contraintes imposées par la réglementation nationale mais aussi celle des contraintes locales.

4.1. Les éléments matériels qui contribuent à la sécurité

Concernant les locaux, la mission a entendu plusieurs fois des chercheurs et techniciens indiquer qu'il était possible de travailler en sécurité dans des locaux qui ne sont pas de niveau 3 si les pratiques et procédures sont adaptées ou *a contrario* qu'il n'est pas possible d'assurer la sécurité dans des locaux de classe 3 si l'équipe ne travaille pas correctement. Pour autant, la classification 3 de locaux induit dans les comportements des personnes des réflexes plus affirmés en termes de sécurité (dus notamment au fait que les L3 sont peu nombreux alors que les L2 sont très nombreux et de ce fait banalisés dans l'esprit de certains utilisateurs).

Par ailleurs, la conception des locaux et des installations doit permettre de protéger les manipulateurs mais également l'environnement.

Enfin, l'introduction de nouvelles techniques, par exemple de sonication, renforcent la nécessité de prendre en compte la problématique liée aux aérosols.

Pour toutes ces raisons, la mission estime que les laboratoires de recherche dans lesquels de multiples techniques sont susceptibles d'être utilisées, doivent être des laboratoires de classe 3 sans leur appliquer la notion de * dont la communauté scientifique a du mal à voir ce qu'elle représente aujourd'hui.

L'organisation à l'intérieur du laboratoire doit également être simple et fonctionnelle et organisée en fonction de chaque expérience, dans une logique de type marche en avant la mieux à même d'apporter l'ergonomie recherchée. Enfin, le travail sécurisé nécessite une attention de tous les instants et une concentration qui ne peuvent être maintenues que si le rythme est adapté aux capacités de chacun, à la complexité de la manipulation et si l'espace est adapté au nombre de personnes qui y évoluent.

4.2. Les éléments non matériels également indispensables en termes de sécurité

Les nombreux échanges de la mission avec les acteurs, français et étrangers, de la recherche sur le prion font ressortir des éléments non matériels qui contribuent à la sécurité :

- la culture de la protection des personnes nécessite une attention constante et doit être garantie par une chaîne sécurité dépendant du plus haut niveau possible de l'institution et différente de la chaîne tournée vers la recherche, tout en formant cette chaîne recherche (direction de laboratoire, chefs d'équipes, responsables divers) aux principes de la santé et sécurité au travail ;
- la bonne information de tous les agents concernés, du technicien intervenant sur les installations aux personnes réalisant les expériences en incluant les animaliers, est primordiale pour le respect des consignes et l'acceptation des risques ;
- le besoin de conditions de travail calmes et la sérénité des agents. Tous les laboratoires ont indiqué qu'ils incitent les agents à renoncer aux manipulations dangereuses les jours où ils sont fatigués ou stressés ;
- un management exemplaire ouvert au dialogue sur les sujets de la prévention des risques professionnels ;
- une participation des équipes afin que les agents se situent à titre individuel dans le projet global de l'équipe est extrêmement important y compris dans les animaleries. **La qualité du management et une participation de tous les personnels à la construction de ce qui assure leur sécurité est indispensable.**

Le choix du chef d'équipe est de ce fait extrêmement sensible et doit être réfléchi en intégrant d'autres critères que la seule qualité de recherche.

4.3. La spécificité de la recherche en termes de gestion du risque

Le propre de la recherche par rapport à d'autres types d'activités est de travailler sur des objets peu connus ; les risques encourus ne peuvent dès lors être anticipés avec certitude et les mesures de sécurité doivent

évoluer au fil de l'acquisition des connaissances sur la dangerosité des objets et dans le contexte des expériences menées. Dans la mesure où aucun traitement ne peut à ce jour permettre la guérison en cas de contamination puis de déclaration de la maladie, l'employeur doit mettre en place des moyens de prévention prenant en compte ces incertitudes pour se rapprocher du risque zéro.

Au niveau du laboratoire, il revient aux responsables scientifiques de s'assurer que les membres de l'équipe sont bien informés de l'évolution des connaissances sur les risques encourus par la manipulation du matériel biologique et de s'assurer que ces évolutions permettent à tous d'évoluer dans leurs pratiques quotidiennes. Ainsi, il est nécessaire d'évaluer les risques au niveau de chaque expérience dont chaque étape doit être examinée en associant étroitement les personnels en charge de leur réalisation. Cette attitude doit permettre de passer en revue chaque geste, matériel et circulation dans l'animalerie et le laboratoire au cours de l'expérience avec une visée d'identification et de réduction des risques. Cette évaluation interne faite par le chercheur et son équipe devra être confrontée à la vision externe d'une commission scientifique locale placée auprès du responsable de site à laquelle participeront les parties prenantes à savoir des chercheurs, techniciens, préventeurs et animaliers ainsi qu'un préventeur et un expert scientifique extérieurs à l'équipe afin de garantir la plus grande objectivité et de favoriser la diffusion des bonnes pratiques.

À chaque modification du protocole ou changement d'agent pathogène, une nouvelle évaluation du risque doit être réalisée et formalisée, même dans un format allégé, pour s'assurer que le temps a été pris de poser les questions liées aux risques.

La question du bénéfice en termes d'acquisition des connaissances par rapport au risque encouru doit être explicitement posée et doit pouvoir conduire à renoncer à certaines expériences ou à la recherche d'autres modalités de réalisation.

La mission recommande la mise en place, au niveau de chaque équipe qui manipule des prions ou des prion-like, d'un mécanisme de contrôle et de validation par une commission scientifique et de sécurité placée auprès du directeur du site afin que les chercheurs présentent leurs protocoles après en avoir évalué tous les aspects, pour obtenir l'autorisation de les mettre en pratique. Cette procédure permettra également une réflexion aboutie sur les enjeux sécurité de la recherche envisagée.

Les modalités de ce processus devront être présentées en CHSCT.

5. Les conditions de la sortie du moratoire

À l'annonce du second cas français possible d'accident de laboratoire dû à un prion, et en l'absence de trace répertoriée d'accident pouvant expliquer la contamination, un moratoire a été décidé fin juillet 2021 conjointement par les directions des organismes de recherche et leurs ministères de tutelle compétents. Ce moratoire a permis de mener une enquête interne et une enquête des inspections générales afin de réévaluer les conditions de sécurité des recherches effectuées de manière générale sur le sujet des prions et plus particulièrement sur la situation de l'équipe INRAE-ENVT dans laquelle a travaillé l'agent A. Il a aussi offert la possibilité de faire le point sur les résultats de recherche qui permettent de réévaluer le risque au vu de l'évolution des connaissances mais aussi des techniques utilisées. Maintenant qu'un certain nombre d'interrogations sont levées, le redémarrage de l'activité recherche peut être envisagé dès lors que des pré requis auront été satisfaits et que l'organisation de la sécurité des pratiques aura été revue. La définition des conditions de redémarrage de l'activité devra associer toutes les personnes des équipes de recherche concernées en les associant comme acteurs à part entière de cette sécurité.

5.1. Les prérequis

5.1.1. La connaissance complète des équipes qui font des recherches sur les prions

Un premier recensement avait été effectué par la mission de 2019. Toutefois cette liste doit être consolidée notamment en vérifiant le champ d'activité de toutes les équipes qui travaillent sur les protéinopathies et pour lesquelles le prion est un modèle. Dans ce cadre, la mission préconise que la démarche initiée sur les prions soit étendue aux prions-like. À l'instar du comité consultatif sur les agents pathogènes dangereux britannique une définition restrictive aux protéinopathies qui représentent un risque pour les humains

pourrait être retenue. **Une procédure pérenne de déclaration ou d'autorisation pour les recherches sur les prions (et prion-like) devrait être mise en place.**

5.1.2. Une boucle de rétro-action pour alimenter le guide de bonnes pratiques préconisé par la mission précédente

Une première version du guide de bonnes pratiques (GBP) préconisé par la précédente mission sur le prion a été produite rapidement et devra être confrontée à la diversité des organisations de recherche présentes dans les différentes équipes. Elle nécessitera sans doute un travail de mise à jour trimestriel la première année. Ce travail devra être réalisé par le comité national Prion chargé de l'animation de la communauté scientifique prion dont la mission recommande la création. Celui-ci s'appuiera sur un groupe de travail constitué de manière équilibrée par des chercheurs, représentant des employeurs, préventeurs et représentants des techniciens de recherche et animaliers qui sont les principaux utilisateurs du guide.

Le guide devra être complété d'une grille d'audit commune permettant d'en évaluer la bonne utilisation avec un vade-mecum à l'usage des auditeurs permettant d'explicitier les points qui le méritent. Des audits sécurité préalables à la reprise de l'activité réalisés sur la base du GBP permettront de mesurer l'écart entre les préconisations du guide et les situations effectives pour justifier une évolution des pratiques ou, si cet écart peut être maintenu, pour intégrer la pratique au GBP. Un rapport d'audit présentant les écarts justifiés qui peuvent être acceptés et ceux qui doivent être corrigés dans un calendrier précisé permettra à la direction de l'organisme de recherche d'autoriser ou non le redémarrage total ou partiel de l'activité de recherche.

5.1.3. Un enregistrement de l'exposition et un suivi médical dans l'attente de la mise en place d'un Passeport pour chaque agent

Dès à présent et dans l'attente de modifications réglementaires sur le sujet, un enregistrement de l'exposition actuelle au risque prion devra être inscrit dans le dossier administratif des personnes concernées. Une reconstitution de l'historique au sein de l'organisme employeur devra être faite au mieux et inscrite également dans le dossier de ces agents.

La mise en place d'un passeport permettrait, pour chaque agent, de suivre les phases d'information, de formation et de tutorat préalables à l'entrée et au travail en autonomie dans les laboratoires et les animaleries ainsi que d'assurer une traçabilité des visites médicales dont il a bénéficié.

Un suivi médical spécifique pour les agents en fonction sera effectué par des médecins du travail formés à cette problématique. Les agents ayant travaillé par le passé sur le prion dans les laboratoires et les animaleries devront avoir accès à ce suivi s'ils le souhaitent.

5.1.4. La mise en place d'une organisation spécifique pour assurer la sécurité et la confiance

La sécurité au travail nécessite d'instaurer une connaissance partagée du risque entre tous les acteurs des équipes de recherche, des mesures de prévention et d'avoir confiance dans le rôle de chacun. Une approche « qualité de la sécurité » doit permettre d'aboutir à ce résultat. Elle doit intégrer, comme le prévoit le code du travail, une phase directement liée à la recherche permettant d'évaluer préalablement l'opportunité de l'expérience envisagée en termes de bénéfice risque-gain de connaissance. Face au risque d'une maladie dont on ne connaît aucun traitement lorsque son processus est déclenché, les unités de recherche doivent adopter en permanence une approche de type 3R : réduire, remplacer, raffiner (optimiser par exemple en limitant le nombre d'animaux inoculés au strict nécessaire indiqué par les lois statistiques afin d'éviter de produire du matériel infectieux dangereux) ; cette approche doit aussi amener à rendre obligatoire l'inactivation à l'acide formique des échantillons pour l'immunohistochimie, sauf cas particuliers dûment justifiés. Une analyse systématique de tout incident ou accident survenu doit contribuer à l'amélioration des pratiques en termes de sécurité.

Une telle approche implique aussi que le chercheur réalise une évaluation des risques et prévoit les modifications de protocole qui en découlent ; pour cela il doit pouvoir s'appuyer sur l'équipe de prévention à laquelle il a accès. Ce protocole formalisé devra être présenté à la commission scientifique de sécurité du site déjà évoquée au § 4.3. En cas de désaccord entre le chercheur et la commission scientifique locale, un

niveau supérieur d'appel, qui devra être défini par l'organisme de recherche, tranchera en dernier ressort. La mise en œuvre de l'expérimentation devra ensuite respecter ce protocole.

Chaque commission scientifique locale devra édicter ses règles dans un règlement intérieur afin de ne pas avoir à réévaluer sans cesse les mêmes situations. Cependant, a minima, tout franchissement de barrière d'espèce et toute expérience impliquant ou pouvant générer une nouvelle souche de classe 3 introduite devra être présenté devant le comité. Ce règlement intérieur doit en outre définir précisément les responsabilités de chacun (chercheurs, techniciens, animaliers, préventeurs, directeur d'UMR et directeur d'organisme) notamment en matière de séparation de la responsabilité scientifique et de l'évaluation du respect des règles.

Dans un EPIC comme le CEA, la responsabilité scientifique et sécurité sont effectivement distinctes, l'une relevant du chef de service et l'autre du chef d'installation, ce qui n'est pas exactement l'organisation décrite par le décret 82-453 modifié applicable à la fonction publique, qui place l'assistant de prévention uniquement sur une mission de conseil auprès du scientifique responsable.

Il est toutefois extrêmement important que les deux chaînes hiérarchiques soient indépendantes jusqu'au plus haut niveau possible de la hiérarchie afin d'éviter les conflits d'intérêts. Pour cela, l'assistant de prévention dans une équipe prion doit pouvoir bénéficier d'une lettre de cadrage de ses missions précisant qu'il peut prendre contact directement et en tant que de besoin avec le conseiller de prévention placé auprès du directeur général ou du président de l'organisme de recherche¹⁹. Le lieu d'échange et de partage de cette approche de la sécurité doit être la commission scientifique de sécurité où tous les acteurs de l'équipe de recherche doivent être représentés.

Comme tout système basé sur un processus d'amélioration continue, des audits internes annuels²⁰ et des audits externes croisés²¹ selon un rythme au moins biennal seront organisés et seront centrés sur la qualité et la sécurité en utilisant la grille d'audit annexée au GBP (cf. supra).

Une formation solide des responsables scientifiques au management de la sécurité est également nécessaire. Dans tous les organismes de recherche, les préventeurs sont formés à cette approche sécurité. Dans les unités de recherche, la connaissance fine des dangers et des risques est entre les mains de ceux qui étudient le prion et mettent en pratique les techniques. Afin que les deux fonctions, (technique / recherche et prévention) puissent communiquer efficacement, un programme de formation des responsables d'équipe au management de la sécurité devra être mis en place²².

Un programme d'habilitation à manipuler des prions pour tout nouvel agent technique ou chercheur doit être formalisé dans chaque unité concernée. Elle doit inclure une formation générique à la biosécurité et une séquence spécifique pour les prions. Une période de tutorat sera mise en place avec une évaluation de l'aptitude de l'agent concerné avant d'autoriser son accès aux locaux et la manipulation sans superviseur. Ces formations et informations devront faire l'objet d'une évaluation et seront inscrites dans le passeport de l'agent.

¹⁹ Ou le conseiller de prévention local (par exemple au niveau d'un centre).

²⁰ Qualité / sécurité-système de management de la sécurité.

²¹ Qualité + technique sur la sécurité et sur le système de management de la sécurité.

²² Un rappel des principes généraux qui s'appliquent à tout risque pourra utilement être fait et renouvelé régulièrement : nécessité de déclarer tout accident et obligation de faire une analyse précise de chaque accident / incident tracé et enquête avec le CHSCT (art 53 Le comité d'hygiène, de sécurité et des conditions de travail procède, dans le cadre de sa mission d'enquête en matière d'accidents du travail, d'accidents de service ou de maladies professionnelles ou à caractère professionnel, à une enquête à l'occasion de chaque accident de service ou de chaque maladie professionnelle ou à caractère professionnel au sens des 3° et 4° de l'article 6. Les enquêtes sont réalisées par une délégation comprenant le président ou son représentant et au moins un représentant des organisations syndicales siégeant au comité. Le médecin du travail, l'assistant ou, le cas échéant, le conseiller de prévention ainsi que l'inspecteur santé et sécurité au travail peuvent participer à la délégation. Le comité est informé des conclusions de chaque enquête et des suites qui leur sont données.

5.2. Les conditions pratiques du redémarrage

5.2.1. Un audit préalable de chaque unité

Pour chaque unité actuellement en charge de recherche sur le prion, la mission préconise la réalisation d'un audit sur la base du GBP et de la grille d'audit annexée dans les conditions déjà évoquées. Cet audit sera fait par un préventeur, et un ou deux experts techniques (dont un prion et un MOT) désignés par la direction de chaque organisme. Le rapport d'audit sera présenté conjointement à la direction de l'UMR et à la direction générale de l'organisme de recherche, qui prendra *in fine* la décision formelle du redémarrage des activités de recherche.

5.2.2. Le CHSCT local devra être réuni avant la reprise de l'activité

Les conclusions de l'audit devront être présentées au CHSCT, lequel rendra un avis qui sera porté à la connaissance du directeur de l'UMR, du directeur de l'établissement hôte et du président ou directeur général de l'organisme de recherche concerné. Le CHSCT est en effet compétent sur les aspects de santé sécurité au travail et son avis en la matière est non seulement réglementaire mais également utile à la construction d'un climat de confiance au sein de l'unité et de l'établissement. Dans le cas où plusieurs CHSCT seraient compétents, ils seront tous consultés. S'il est possible de les consulter en formation conjointe, cette possibilité sera utilisée.

5.2.3. Une réunion de réouverture élargie à toute l'équipe sous la présidence d'un représentant de la direction de l'institution

Le redémarrage des travaux de recherche sera un événement majeur pour les équipes, dans un contexte où de très fortes inquiétudes se sont manifestées et existent toujours. L'enjeu d'officialiser cette reprise est de marquer l'importance de la réflexion particulière sur le danger du prion et des laboratoires et animaleries à classer vraiment en niveau 3 sans sous-estimer le portage aéroporté, sans doute possible avec le développement de techniques qui provoquent ce risque.

Les personnes travailleront en sécurité si les bonnes mesures de protection sont prises et si elles ont confiance dans toutes les composantes de l'équipe, et dans l'adéquation des mesures instituées. Un rappel devra être fait pour favoriser les déclarations et signalement d'accidents.

À cet effet, une réunion de redémarrage présentant l'ensemble du plan de reprise d'activité de recherche, placée sous la présidence du plus haut responsable de l'organisme de recherche ou de son représentant au meilleur niveau devrait permettre de marquer la prise en compte de la sécurité au plus haut niveau et permettre le passage d'une étape majeure pour les équipes.

6. Les évolutions à court et moyen termes

6.1. Court terme

6.1.1. La désignation d'un pilote Prion au ministère en charge de la recherche

Les recommandations des deux missions des inspections générales s'inscrivent dans une continuité de démarche qui demande du temps. Il serait donc utile de désigner, au sein de chaque ministère, un pilote du suivi de ce dossier. Cette nécessité de garantir dans le temps la visibilité et l'effectivité des démarches en cours et à venir a été exprimée plusieurs fois lors d'entretiens avec des personnes inquiètes. Ce pilote pourra assurer la présentation annuelle en CHSCT ministériel de l'avancée des démarches.

6.1.2. Vers des conditions L3 généralisées

Dès lors qu'une structure réalise autre chose qu'une activité de diagnostic de routine sur le prion, une évolution vers des conditions de L3 strictes doit être envisagée. La réglementation en classe 2 et 3* des prions et le classement des laboratoires associés date de 1998. Depuis, la recherche a considérablement évolué, la notion de souche est passée d'une notion basée sur une expression clinique naturelle, à une classification basée sur des caractéristiques biochimiques et des caractéristiques nécessitant le passage sur des souris dont on a modifié les caractéristiques génétiques et induisant des passages de barrières d'espèce de plus en plus

fréquents. Les techniques biochimiques ont également évolué et certaines techniques amplifient considérablement l'infectiosité des échantillons. Enfin la notion de laboratoire 3* est parfois entendu comme étant du niveau 3. De ce fait, la mission recommande que la recherche sur les prions se fasse à l'avenir dans des laboratoires de classe 3 avec des protocoles de protection des personnes formalisés et évalués pour chaque type de technique ou manipulation, de souche de prion et d'espèce hôte.

6.1.3. Étudier l'opportunité d'imposer a minima le niveau L2 pour les recherches sur les prions-like

Ce sujet ne fait pas stricto sensu partie de la lettre de mission, mais la plupart des équipes ayant travaillé sur les prions, se sont tournées aussi vers les études de prions-like ou propagons, le prion ayant ouvert la voie sur l'étude des protéinopathies. Ce point avait déjà été soulevé par le rapport paru en 2020. La mission a entendu des chercheurs français et étrangers très prudents dans leur approche du risque sur ces prion-like et prenant des précautions procédurales souvent équivalente à celles prises pour l'étude des prions. Il apparaît à la mission que ce sujet des prions-like et des conditions de recherche associées mériterait un approfondissement en définissant le contour du sujet, les risques liés aux recherches sur ces protéinopathies ainsi que l'identification des laboratoires qui sont concernés par ces recherches.

6.1.4. Une évaluation du risque des techniques nouvellement appliquées aux prions

La recherche sur les prions, historiquement faite en histologie classique sur coupe d'encéphale, s'est considérablement enrichie de techniques diverses avec l'utilisation de modèles animaux et de techniques biochimiques de plus en plus diversifiées. Certaines de ces techniques nécessitent une amplification d'infectiosité ou la création de matériel infectieux en reproduisant la maladie sur diverses espèces de mammifères. Cette création d'infectiosité présente un danger pour les manipulateurs qui n'est pas toujours complètement anticipée au démarrage de la technique. La PMCA a ainsi longtemps été pratiquée hors d'un PSM²³ avant que certains chercheurs n'attirent l'attention sur son danger potentiel (c'est un des résultats de la réunion des chercheurs organisée par le CNR en 2019 à la suite du décès de la technicienne affectée au laboratoire de Jouy-en-Josas). Pour éviter cette situation, la mission recommande qu'avant qu'une nouvelle technique soit répétée ou utilisée en dehors du laboratoire qui l'a publiée, elle soit évaluée de manière collégiale par le comité national Prion qui émettra un avis et des recommandations à disposition des équipes de recherche. Cette réflexion pourra être utilement transposée aux prion-like.

6.1.5. Une formation des médecins du travail à la problématique d'exposition au prion

Une première session a eu lieu avec le CNR prion. Avant d'autoriser le redémarrage de l'activité les établissements devront vérifier que leur médecin du travail a bien suivi une session spécifique prion ou que celle-ci soit planifiée dans les deux mois qui suivent la réouverture du laboratoire.

6.1.6. Mettre en place une organisation du suivi des personnes exposées par le passé

L'enregistrement des expositions actuelles est traité dans le paragraphe consacré aux prérequis. Cependant la mission recommande que ce travail soit complété sur 2 volets :

- la reconstitution des expositions passées, ne serait-ce que pour répondre aux inquiétudes et attentes légitimes des personnes qui ont quitté les services et se sont manifestées ;
- une modification règlementaire permettant, comme pour les CMR, de garder tout au long de la vie des personnes, la trace de leur exposition aux prions. Il s'agit de pathologies à évolution très lente dont l'incubation peut être très longue, voir supérieure à la durée de vie des personnes. Il n'est donc pas souhaitable de limiter le suivi des personnes exposées à leur seule vie professionnelle, il est nécessaire de l'étendre à la durée de vie des personnes concernées.

6.1.7. Une animation de la communauté scientifique prion avec une attention à porter à la sécurité

La sécurité des équipes de recherche ne peut se développer que dans un environnement participatif et de confrontation des expériences et des idées. Pour ce faire un comité national prion réunissant l'ensemble des responsables des équipes qui travaillent sur les prions devra être mis en place par le ministère. Son pilotage pourra être confiée au binôme CNR - LNR. Un congrès annuel des chercheurs sur les prions a été organisé

²³ C'est encore le cas dans certains laboratoires.

pendant 7 ans (<http://pitiasalpetriere.aphp.fr/creutzfeldt-jakob/journees-dactualites-maladies-a-prions/>). Le dernier colloque date de 2017 et l'organisation a été arrêtée faute de budget dédié. Ces journées pourraient très utilement reprendre en consacrant au moins une demi-journée de travail aux aspects santé sécurité au travail. Le comité national prion sera chargé de l'organisation de cet événement annuel et devra pour cela être doté du budget nécessaire. Une autre organisation possible serait de donner au Comité prion le soin de suivre et de contribuer (notamment au niveau scientifique) à l'organisation d'un tel événement, et d'en confier le financement et l'organisation matérielle à chaque grand organisme de façon tournante. Le comité national prendra également en charge la coordination des travaux concernant le guide de bonnes pratiques évoqué au § 5.1.2.

6.2. À moyen terme des points d'attention et des conditions de réussite

6.2.1. Dans les unités mixtes de recherche examiner la bonne répartition des responsabilités

Beaucoup d'équipes de recherche ont de multiples donneurs d'ordre ce qui peut avoir des avantages mais pose toujours un problème de répartition des responsabilités. La situation la plus classique est celle d'un organisme hébergeur auquel l'infrastructure appartient tandis que les équipements et les personnels dépendent de plusieurs autres organismes de recherche ; la bonne articulation entre l'hébergeur et les établissements hébergés doit nécessairement passer par des conventionnements clairs entre les différentes parties afin que, pour chaque laboratoire, la répartition des responsabilités soit clarifiée. Il est indispensable d'identifier pour chaque laboratoire qui fait quoi et comment est assurée l'information réciproque et l'information des agents. Un bilan de la bonne application de ces conventions devra être fait annuellement.

6.2.2. Une consultation du comité d'éthique à réaliser

Précédemment, la mission a préconisé la reconstitution des expositions passées pour les agents encore en poste et ceux qui ont quitté le service et se sont signalés. La question de savoir si les organismes doivent systématiquement rechercher les personnes qui ont quitté le service pour leur proposer cette reconstitution d'exposition a souvent été évoquée lors des auditions. Des médecins auditionnés y sont réticents car ils ne savent pas ce qu'ils pourraient proposer aux personnes qui auraient pu être victimes d'accidents ou d'incidents. Ils craignent de déclencher des anxiétés qui ne se révéleraient pas autrement. À l'inverse, de nombreux agents entendus souhaitent la mise en place d'un tel dispositif qui pourrait éviter une errance médicale du patient. Cette question du devoir d'information en l'absence de solution thérapeutique soulève un sujet éthique sur lequel le comité national d'éthique pourrait utilement éclairer le pouvoir politique décisionnaire.

6.2.3. Étudier la possibilité d'organiser une veille épidémiologique au niveau national

La transparence des pouvoirs publics sur les cas possibles de vMCJ est à saluer, mais l'incertitude sur l'existence éventuelle d'autres cas qui n'auraient pas été identifiés alimente une angoisse chez les travailleurs de la recherche sur le prion. Aussi, la mission juge important de pousser l'effort de transparence par la mise en place d'une veille épidémiologique sur cette population très spécifique : la mission n'a pas eu le temps d'approfondir le sujet mais propose qu'une étude d'opportunité et juridique soit réalisée pour la mise en place d'un dispositif de veille permettant d'identifier des cas possibles de vMCJ chez les personnels ayant participé à des travaux de recherche sur le sujet. Cela implique un recensement des personnels concernés qui serait accessible au CNR et/ou Santé Publique France lesquels pourraient ensuite croiser l'information avec les nouveaux cas possibles et alerter les pouvoirs publics sur d'éventuels phénomènes épidémiques.

6.2.4. Développer l'approche One-Health

Le sujet des prions et plus généralement des protéinopathies est un sujet de santé animale, la tremblante du mouton est le modèle historique de ce type de maladie, de santé publique humaine (MCJ, vMCJ, Kuru, syndrome insomnie fatale familiale, maladie de Gerstmann-Sträussler-Scheinker) et un sujet environnemental puisque la résistance du prion dans l'environnement est très importante. Les recherches sur les prions-like s'orientent vers une influence de l'environnement au sens large comme facteur possiblement déclencheur de certaines d'entre elles. Ce sujet mérite donc de continuer et d'amplifier les recherches pluridisciplinaires entre les différents organismes de recherche et les différents acteurs (universitaires, médecins, pharmaciens, vétérinaires, agronomes etc.). Cependant, ce concept One Health

demande vraisemblablement que les barrières d'espèces soient respectées et que le franchissement de cette barrière ne devienne pas une pratique courante, ou à tout le moins qu'il soit longuement réfléchi en termes de risque / bénéfice avant d'être mis en œuvre.

Dominique CHABANET

Sacha KALLENBACH

Laure VILLARROYA-GIRARD

Annexes

Annexe 1 :	Lettres de saisine et de désignation.....	29
Annexe 2 :	Cursus labori de l'agent.....	32
Annexe 3 :	Registre santé et sécurité au travail de l'ENVT	36
Annexe 4 :	Les locaux	38
Annexe 5 :	Analyse de l'exposition de l'agent sur la base de sa production scientifique attestée par la signature d'articles publiés	41
Annexe 6 :	Évolution des pratiques de prévention	47
Annexe 7 :	Parangonnage international.....	54



GOVERNEMENT

*Liberté
Égalité
Fraternité*

*Ministère de l'Enseignement Supérieur
De la Recherche et de l'Innovation*

Ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation

Les directeurs de cabinet

Paris, le **27 SEP. 2021**

Note à l'attention de :

Madame la cheffe de service de l'Inspection générale de l'éducation, du sport et de la recherche (IGESR)

Monsieur le vice-président du Conseil général de l'alimentation, de l'agriculture et des espaces ruraux (CGAAER)

Le décès d'une jeune femme atteinte d'une pathologie correspondant à un variant de la maladie de Creutzfeldt-Jakob (vMCJ) intervenu le 17 juin 2019 nous a conduit à mobiliser les inspections pour évaluer la qualité et la complétude des cadres réglementaires et des dispositifs de maîtrise des risques et de prévention en matière de santé et de sécurité du travail dans l'ensemble des laboratoires et animaleries de recherche intervenant sur des prions infectieux. Vos travaux ont débouché sur la publication d'un rapport, rendu public le 28 octobre 2020. Depuis cette parution, nos deux ministères, en relation étroite avec les organismes concernés, travaillent à la mise en œuvre de vos recommandations pour améliorer la sécurité des conditions de travail et des installations dans la conduite des activités de recherche sur les prions infectieux et les prions-like.

C'est dans ce contexte qu'a été rendue publique la connaissance d'un nouveau cas possible de maladie de MCJ chez une retraitée d'INRAE ayant travaillé entre 2000 et 2015 au sein d'une UMR d'INRAE et de l'ENV-Toulouse. La nature exacte et les causes de la pathologie qui la frappe sont pour l'instant inconnues. Dans ces conditions, à l'initiative d'INRAE, les cinq organismes nationaux de recherche travaillant avec et sur des prions infectieux ont décidé d'un moratoire de 3 mois sur les projets de recherche à compter du 25 juillet, dans l'attente d'une meilleure connaissance du contexte et des raisons de cet événement.

Face à cette situation et pour éclairer les responsables qui doivent déterminer les conditions à remplir pour sortir du moratoire, si tel devait être le cas, en assurant la sécurité des conditions de travail de ces personnes, nous souhaitons faire appel une nouvelle fois à votre expertise, dans un cadre différent de votre précédente mission : il s'agira cette fois d'analyser ce nouveau cas suspect de contamination et de faire un point précis sur les nouvelles questions scientifiques et techniques qu'il pose le cas échéant, dans un contexte où son origine potentielle est aujourd'hui inconnue.

En s'appuyant sur tous les travaux déjà engagés, notamment la production d'un guide des meilleures pratiques de laboratoire en matière de santé et de sécurité au travail adapté aux prions, vos recommandations permettront d'éclairer les décideurs sur les conditions à remplir pour une sortie maîtrisée du moratoire, si la décision devait être prise dans ce sens, permettant de garantir la prévention des risques d'exposition inhérents à ce type de recherche. Vous pourrez aussi recommander les changements qui vous paraîtront nécessaires s'agissant des méthodes à développer pour la conduite des expérimentations.

La mission mobilisera l'expertise des organismes concernés, des structures nationales de référence compétentes pour les agents transmissibles non conventionnels, dans les domaines de la santé humaine et animale. Pour la partie réglementaire de vos travaux concernant le code du travail vous pourrez vous appuyer sur la DGRH du ministère en charge de la recherche. Il serait utile d'associer un inspecteur santé et sécurité au travail du ministère de l'enseignement supérieur, de la recherche et de l'innovation à vos travaux. La mission pourra également s'appuyer sur l'audition d'experts scientifiques internationaux qui seront proposés par les organismes de recherche concernés.

Nous attacherions du prix à ce que vos premières recommandations nous soient remises si possible d'ici la seconde partie du mois d'octobre.

Ali Saïb

Fabrice Rigoulet-Roze

Section des rapports

N°21-22 133

Affaire suivie par :
Manuèle Richard

Tél : 01 55 55 30 88
Mél : manuele.richard@igesr.gouv.fr

Site Descartes
110 rue de Grenelle
75357 Paris SP 07

Paris, 27 septembre 2021

La cheffe de l'inspection générale
de l'éducation, du sport et de la recherche

à

Monsieur le directeur de cabinet
de la ministre de l'enseignement supérieur,
de la recherche et de l'innovation

Objet : Mission n° 21-22 133 Les laboratoires de recherche sur les prions infectieux.

Référence : Votre courrier en date du 27 septembre 2021.

Par lettre visée en référence, le directeur de cabinet du ministre de l'agriculture et de l'alimentation et vous-même avez souhaité que le conseil général de l'alimentation, de l'agriculture et des espaces ruraux et l'inspection générale de l'éducation, du sport et de la recherche effectuent une mission d'expertise portant sur un nouveau cas suspect de contamination provoquant un cas possible de maladie de Creutzfeldt-Jakob au sein d'une UMR d'INRAE et de l'ENV- Toulouse, afin de faire un point sur les nouvelles questions scientifiques et techniques posées.

J'ai l'honneur de vous informer que j'ai désigné Mme Sacha Kallenbach, inspectrice générale de l'éducation, du sport et de la recherche, sacha.kallenbach@igesr.gouv.fr, et Mme Laure Villarroya-Girard, inspectrice santé et sécurité au travail, laure.villarroya-girard@igesr.gouv.fr, pour effectuer cette mission.



Caroline PASCAL

CPI : M. le vice-président du CGAAER
Mme Sacha Kallenbach
Mme Laure Villarroya-Girard
M. Pascal Aimé, responsable du collège ESRI



**MINISTÈRE
DE L'AGRICULTURE
ET DE L'ALIMENTATION**

*Liberté
Égalité
Fraternité*

**Conseil Général de
l'Alimentation, de l'Agriculture et
des Espaces Ruraux**

Monsieur Dominique CHABANET
Inspecteur général de santé publique
vétérinaire

Alain MOULINIER

Vice-Président

Paris, le

- 8 OCT. 2021

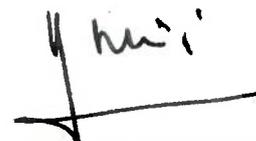
N/réf : YH/FM – CGAAER n° 21101

Objet : Les laboratoires de recherche sur les prions infectieux

Vous avez été désigné pour conduire, conjointement avec l'Inspection Générale de l'Education, du Sport et de la Recherche, une mission de conseil sur les laboratoires de recherche sur les prions infectieux.

Cette mission est suivie par le Président de la troisième section « alimentation et santé », auprès duquel vous trouverez l'appui qui peut vous être nécessaire.

Vous voudrez bien vous conformer, pour la conduite de cette mission, aux dispositions du processus commun des missions, annexé au règlement intérieur du Conseil général.


Alain MOULINIER

Copie à :

- M. le Président de la 3ème section

251, rue de Vaugirard
75732 PARIS Cedex 15
Tél : 01 49 55 44 36
Mél : alain.moulinier@agriculture.gouv.fr

Cursus labori de l'agent A

Bac en 1973

Recruté par l'INRA le 1^{er} avril 74 il travaillera pour l'anatomie dans un premier temps

Titularisé en 1984

Il rejoint l'UMR PIPR en 1993

Sa formation (extraite de fiches de poste):

- techniques histologiques en HIDAOA (ENVT) ;
- techniques d'histoenzymologie musculaire et Techniques immuno-histochimiques en anatomie pathologique (ENVT) ;
- manipulations d'embryons d'oiseaux à l'Université Autonome de Barcelone (Espagne) ;
- présentation de la nouvelle architecture informatique de l'ENVT (Centre PROGIFORM) ;
- 1 semaine de cours sur l'utilisation et la protection des animaux de laboratoire niveau II

(diplôme délivré en 1999).

Son activité technique était centrée sur l'anatomie avant 2001.

Son poste en 2001 comporte les tâches suivantes :

- prélèvements en salle de TP, en salle d'autopsie et parfois dans les abattoirs :
 - injections de tissu mammaire en vue de préparation pour examen en microscopie électronique à balayage,
 - mise en œuvre des techniques histologiques classiques et immunohistochimiques,
 - préparation de coupes destinées à l'analyse histomorphométrique sur les parties glandulaire et papillaire de mamelles de brebis,
 - responsable du matériel et de la gestion des produits de laboratoire,
 - gestion des dossiers, organisation des déplacements des intervenants dans le cadre des enseignements post-universitaires - formation continue.

En octobre 2001 cette activité s'est tournée vers l'histologie au sein de l'équipe prion.

Entre janvier 2002 et décembre 2002 l'agent A a accepté de prendre en charge temporairement le secrétariat de l'UMR 959, pour suppléer à l'absence de la secrétaire d'unité. Depuis janvier 2003 (il rejoint l'IHAP officiellement au 1^{er} janvier 2003), l'agent A continue d'exercer des tâches administratives « de transition » liées à la fusion UMR959/UMR960 à mi-temps.

Depuis la fin 2003, il se consacre entièrement à des fonctions techniques en histologie et immunohistochimie reprenant les missions Mme G. qui quitte l'unité en 2004 et formé par elle à ce poste; il est encadré à ce poste par le responsable de l'équipe prion et a aussi comme interlocuteurs d'autres chercheurs de l'équipe.

En 2004 ses missions consistent principalement à :

- assurer la mise en œuvre des techniques histologiques et immunohistochimiques utilisées dans l'identification et l'étude des encéphalopathies spongiformes transmissibles (EST) des petits ruminants ;

et secondairement :

- à participer à la réalisation des techniques histologiques et immunohistochimiques utilisées dans l'étude des mécanismes immunitaires associés à la résistance / sensibilité des ovins aux maladies (strongyloses, paratuberculose).

Méthodes et techniques employées :

- recoupe des organes ;
- inclusion en paraffine, réalisation des blocs, coupe des blocs, réalisation des lames, colorations usuelles (hémalun éosine) et spéciales (Ziehl, Bleu de toluidine, ...) ;
- utilisation de l'automate d'immunohistochimie : immunomarquage de la PrPsc, immunophénotypage lymphocytaire ;
- organisation du travail ;
- les échantillons sont généralement traités par séries ;
- selon la durée des manipulations nécessaires à une série et le délai de réponse attendu, des techniques ou des activités différentes peuvent être intercalées.

En 2006 sont rajoutés dans ses missions et objectifs :

- mise en œuvre partielle d'autres techniques utilisées au laboratoire pour la détection de la protéine prion anormale (western blot, ELISA) ;
- entretien des matériels communs (conduite d'autoclaves etc.) ;
- participation à la démarche qualité au sein du laboratoire (responsable de la partie immunohistochimie).

Les expériences sur les mécanismes immunitaires des ovins associés aux maladies disparaissent alors.

Les méthodes et techniques sont enrichies avec :

- réalisation ELISA, PET-Blot et Western blot.

En 2008 les missions et objectifs sont complétés par :

- La gestion des commandes stock en relation avec l'activité histologique et immunohistochimique.

Aux méthodes et techniques sont ajoutées :

- la Préparation et traitement des échantillons congelés destinés à l'histologie et l'immunohistochimie
- la conduite d'un automate d'extraction protéique

En 2010 participation à la prévention des risques chimiques et biologiques.

En 2012 : développement de nouvelles techniques dans le domaine de la caractérisation phénotypique biochimique des agents EST.

Ces missions resteront identiques jusqu'en 2015 lorsqu'il part à la retraite.

En 2019 il revient au laboratoire pour former la nouvelle technicienne histologie auprès de qui il insistera fortement sur les risques chimiques (formol, toluène, colorants etc.) auxquels il est très sensibilisé, et semble-t-il moins aux risques biologiques.

Il signale sur le registre hygiène et sécurité de l'ENVT deux coupures. Une le 28 septembre 2004 « *coupure index gauche par lame de verre* » et une le 21 avril 2005 « *coupure pouce gauche par lame de microtome* ». Des témoignages de la plupart des personnes rencontrées, la manipulation du microtome dans les conditions et la perception des risques de l'époque (lame manipulée à la main et même avec une double paire de gants latex) provoquait régulièrement des coupures « *qui faisaient partie de la vie* » et n'étaient pas toujours répertoriées, ni ne faisaient toujours l'objet de déclaration en tant qu'accident de service. La grande majorité des témoins décrit l'agent comme respectueux des consignes des chercheurs et du responsable d'équipe.

Un récapitulatif des souches et échantillons manipulés a été fait et a été transmis par l'ENVT :

Nom manip	Hôte	souche	type	nombre approx. d'échantillons traités												
				2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015		
biopsie chèvres	caprins	biopsie (barreau, broug en bresse, fougères, niort VD lait)	2			5000										
suiwi chèvre équarissage	caprins	prélèvement post mortem (cerveau, amygdale)	2			10000										
Spiropoulos	ovins/caprins	LAN, Daw, P548, Scrapied Guegen, P5306, P518, Scrapie Goujon	2			2600										
FSA atypique	ovins	FSA atypique	2							4071						
Inoc 2006	ovins	LAN	2			1860										
Inoc mars 2005	ovins	LAN	2					3120								
sang 1	ovins	DAW	2	120												
sang2 (transfusions)	ovins	DAW	2	600												
Sang 3	ovins	Daw	2			576										
Sang 4	ovins	Daw	2					69								
Sang LAN	ovins	LAN	2					408								
Placenta II	ovins	LAN	2				1330									
Placenta III	ovins	LAN	2					630								
embryons	ovins	LAN	2											800		
Manip lait	ovins	LAN	2		2540											
Moutons inoculés	ovins	BSE (Tours)	3							624						
		tremblante	2							1576						
Strep goat	Caprins	Guegen (tremblante)	2						1035							
Manip Cornées	Ovins	DAW	2											600		
Tremblante LAN	Ovins	LAN	2	1169	742	1099	966	805	875	896	427	644	301	63		
Ech VIM	souris	vCJD / ESB	3							200						
Manip Espagne	souris	NOR98/BSE/scrapie	3	72	66	103	120	50	60	39	88					
Manip Souris Toulouse	souris	NOR98/BSE/Humain.....	3	14	28	325	152	172	375	500	530	272	632	604		
Diagnostic (hors prion)	Ovins/bovins			1540	1540	1342	1439	1427	1002	1497	2013	1612	2062	2014		
TOTAL approx. Des échantillons traités																
															échantillons type 3	7,45%

Il faut retenir que 7,45 % des échantillons et souches sont de classe 3 et qu'il y a dès 2005 des souches ESB avec pour certaines techniques un témoin positif ESB qui était nécessairement contaminé avec une souche de classe 3 transmissible à l'homme.

Un travail de reconstitution des procédures de protection, EPI, traitement des effluents a été fait par l'INRAE et est reproduit ci-dessous :

Année	1987	1988	1998	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020									
Accidents / incidents								25/4/2008 Mare C Dr. J. Le Bouffant au pôle de l'EP (site de B) gare, sans confinement																14/10/21 COMPTON Site A contaminé 22/02/21 COMPTON Site A contaminé									
EPI personnels	blouse				casque jetable, chaussures jetables, 2 paires de gants				gants jetables				masques				PDC (protection / PVA) et 1 masque jetable marqué PP3 pour certaines tâches				gants jetables masque												
								nettoyage et travail sur homogénisats															gants jetables		gants jetables (pour le site de B)								
Formations sécurité au travail	total pour ESB : dangers des échantillons marqués au laser (coups de feu, projection dans les yeux, explosion (explosifs...))																																
											problèmes actuels : nouveaux arrivants : classes B : information sur les consignes d'hygiène et sécurité										support de présentation			check list pour les hygiénistes et autres intervenants									
											niveau des connaissances actuelles dans le domaine des ESB													évaluation interne / qualification									
					1 agent HAP formé via convention		11 agents HAP formés via convention		2 agents HAP formés via convention		1 agent HAP formé via convention												nov 2015 formation ZEP 5 agents BUL 251 management LJ										
Déchets solides	auto-cuves pour WASTO																																
Déchets liquides	lavabo jetable																																
	général, restants pour ESB et usage des stations solvants																																
Divers	site CHCT																																
	site CHCT																																
	CHCT : les données de la section personnes à risque, avoir EP, machines pour les sites, réglage particulier, projets de structures pour le logement et l'occupation																																
	CHCT : voir le site de l'annuaire, le site de formation / information sur les tâches et autres (en interne) pour 1998-1999																																

Sources :
entretiens 4/18/21, CR P-BJ entretien OA 31/08 et 1/09/21, document pour l'évaluation ZEP_URS_2017 - UNR3225, CR CHCT 1997 et 1998

Cependant ces éléments doivent être pris avec prudence, des témoignages tendant à montrer que l'obligation de port de certaines protections étaient parfois plus une option ou un encouragement qu'une obligation.

Ces éléments tendent à montrer que les occasions de se contaminer ont sans doute été nombreuses et que toutes les hypothèses déjà explorées par l'INRAE en interne doivent être prises au sérieux.

Les registres santé sécurité au travail de l'ENVT

Le décret n°82-453 du 28 mai 1982 modifié relatif à l'hygiène et à la sécurité du travail ainsi qu'à la prévention médicale dans la fonction publique indique :

Article 3-2

« Un registre de santé et de sécurité au travail est ouvert dans chaque service et tenu par les agents mentionnés à l'article 4. Ce document contient les observations et suggestions des agents relatives à la prévention des risques professionnels et à l'amélioration des conditions de travail.

Le registre de santé et de sécurité au travail est tenu à la disposition de l'ensemble des agents et, le cas échéant, des usagers. Il est également tenu à la disposition des inspecteurs santé et sécurité au travail et des comités d'hygiène, de sécurité et des conditions de travail. »

Article 60

« [...] Le comité prend, en outre, connaissance des observations et suggestions relatives à la prévention des risques professionnels et à l'amélioration des conditions de travail consignées sur le registre de santé et de sécurité au travail prévu à l'article 3-2. »

Une note du 29 novembre 2001 de la sous-direction du développement professionnel et des relations sociales a informé les directions de leurs obligations en matière de mise en place des registres.

Une note du 29 octobre 2003 de la DRH du ministère de l'agriculture rappelle la procédure à suivre en cas d'accident du travail et la nécessité d'inscription au registre santé et sécurité au travail.

Une note du 21 décembre 2004 de la DGA/SDDRPR N° 2004-1370 rappelle la procédure à suivre en cas d'accident du travail.

La mission s'est attachée à consulter l'ensemble des registres santé et sécurité au travail (précédemment dénommés registres hygiène et sécurité) de l'ENVT, hébergeur de l'équipe de recherche « prion ».

L'ensemble des signalements pour la période couvrant octobre 2002 à octobre 2015 ont pu être consultés. Malgré un archivage des documents perfectible (doublons, archives dans le désordre, tableaux de synthèse, unités reconfigurées, archives endommagées suite à un dégât des eaux¹), des signalements ont pu être retrouvés. Les suites données à ceux-ci n'ont pu que rarement être retrouvées n'étant pas inscrites sur le registre ou n'apparaissant pas dans les PV des CHSCT.

Au niveau de l'école, plusieurs signalements présentent un intérêt au regard de la mission soient parce qu'ils concernent l'agent A, soit qu'ils sont survenus dans le laboratoire prion :

- 21/04/2004 : Agent A « brûlure au poignet et à l'avant-bras gauche en transvasant de l'acide formique après que l'entonnoir se soit déversé » (déclaration d'accident du travail) ;
- 28/09/2004 : Agent A « coupure index gauche par lame de verre » ;
- 9/12/2004 : Agent A « lors d'une chute en arrière l'agent s'est fait mal au poignet droit en voulant se rattraper ». « Sol du laboratoire glissant » ;
- 21/04/2005 : Agent A « coupure pouce gauche par lame du microtome » ;
- 19/12/2002 : Agent B « 1 coupure au pouce de la main gauche avec un débris de lamelle (laboratoire prion). Soin : désinfection » ;
- 2/07/2004 Agent C « coupure de l'index de la main gauche avec une lame de rasoir » soins : désinfection 15 minutes javel 6 » (laboratoire prion).

¹ Selon les informations recueillies par la mission auprès de l'ENVT.

Des informations qui ont pu être retrouvées, un seul de ces signalements a fait l'objet d'une déclaration d'accident de travail (celui du 21 avril 2004). Aucune analyse d'accident du travail conformément à l'article 53 du décret 82-453 modifié² n'a été réalisée³.

De nombreuses coupures et piqûres sont signalées dans différentes unités de l'ENVT sur la période étudiée. Ce qui en fait un risque prégnant au sein de l'école. La lecture des PV de CHSCT⁴ et des registres montre que l'établissement a connu également sur la période de fortes problématiques en matière de risque chimique, radioactivité et incendie.

² Article 53 « Le comité d'hygiène, de sécurité et des conditions de travail procède, dans le cadre de sa mission d'enquête en matière d'accidents du travail, d'accidents de service ou de maladies professionnelles ou à caractère professionnel, à une enquête à l'occasion de chaque accident de service ou de chaque maladie professionnelle ou à caractère professionnel au sens des 3° et 4° de l'article 6.

Les enquêtes sont réalisées par une délégation comprenant le président ou son représentant et au moins un représentant des organisations syndicales siégeant au comité. Le médecin du travail, l'assistant ou, le cas échéant, le conseiller de prévention ainsi que l'inspecteur santé et sécurité au travail peuvent participer à la délégation ».

Le comité est informé des conclusions de chaque enquête et des suites qui leur sont données.

³ Source : PV des CHSCT.

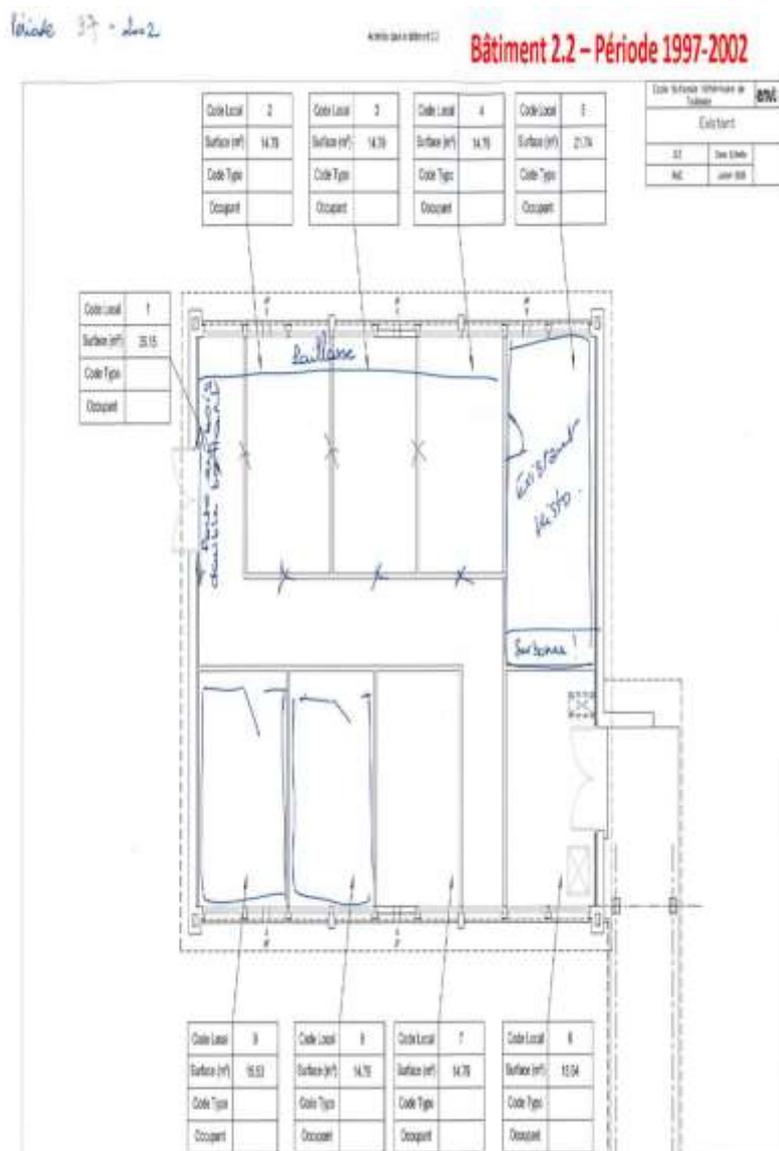
⁴ PV de CHSCT consultés des 10/10/2002, 3/11/2003, 23/09/2004, 14/12/2004, 13/12/2005, 14/03/2006, 15/06/2006, 19/10/2006.

Évolution des locaux de l'équipe prion

L'évolution des locaux se divise en 3 périodes :

1 - L'ancien laboratoire : période 1997-2002. Elle correspond au laboratoire historique du service d'anatomie pathologique situé dans le bâtiment 2-2 dans lequel les analyses histologiques pour la tremblante étaient réalisées dans les conditions habituelles de l'histologie de l'époque.

Ce laps temporel a encadré la période de découverte et le début de la lutte contre l'ESB (découverte du lien avec les cas humains en 1996; début de la lutte et des recherches sur l'ESB, le 2 janvier 2001 généralisation du dépistage sur les carcasses des abattoirs et les animaux morts) dans un contexte de peurs alimentaires très marqué. L'équipe prion et l'ENVT étaient alors en appui des pouvoirs publics pour les conseiller sur la lutte contre l'ESB et sa transmission à l'homme et pour être acteur en tant que référence sur le diagnostic des animaux suspects d'ESB.



2 - En 2002-2003 ce laboratoire, isolé des autres activités de l'école, a été rénové mais ne disposait pas de filtration d'air ni de fenêtres hermétiques. Le travail à risque se faisait sous PSM (3) et sorbonne (1), mais ces derniers n'étaient pas l'objet des vérifications requises jusqu'à la fusion des UMR 959 et 960 en 2003 pour créer l'IHAP. Les déchets liquides et solides étaient traités respectivement par la javel et autoclavage avant évacuation.

En 2002 les programmes de recherche avec utilisation de modèles animaux (souris) ont démarré et nécessité des installations nouvelles qui sont arrivées en 2004.

En 2004, un équipement dit biomodule est installé dans un préfabriqué modulaire avec une partie animalerie et une partie laboratoire servant essentiellement aux inoculations et aux prélèvements. Il sera utilisé jusqu'en 2019.

3 - Le laboratoire actuel a été construit en 2017, après le départ à la retraite de l'agent A.

L'essentiel de l'activité de l'agent a donc été réalisé dans le laboratoire d'anatomopathologie restauré en 2002-2003.

Des extraits des rapports de l'ISST datant de ces années montrent des conditions d'installation inadaptées :

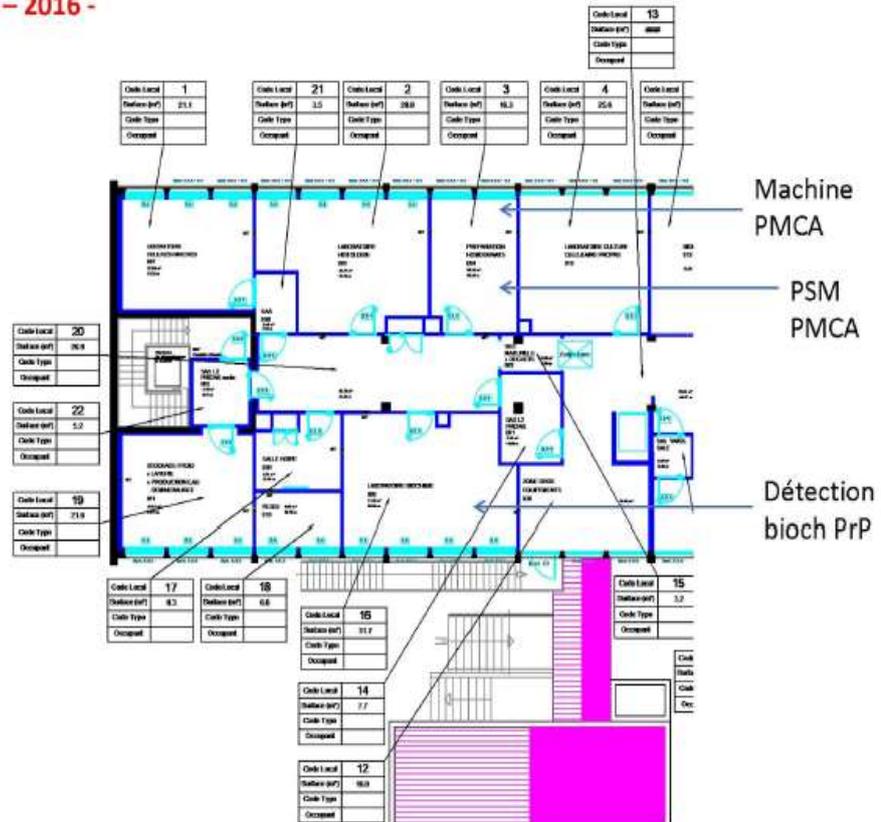
- rapport ISST 2001 : « Laboratoire "Tremblante" »
 - « *pas de respect des règles de confinement pour des germes de groupe 2 : signalisation du labo., accès réglementé et verrouillable, vestiaire séparé, sols faciles à nettoyer, règles de stockage des agents biologiques, etc. ;*
 - *ne respecte pas l'arrêté du 8 juillet 1998 fixant les conditions d'autorisation de fonctionnement des animaleries de certaines unités de recherche, de développement et d'enseignement en matière d'encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles. »*
- visite 2008 avec ISST et école : en cours / part. réalisé ; une opération de vérification des hottes, des PSM et sorbonnes est programmée pour l'ensemble des labos de l'IHAP mais la coordination de cet exercice est rendue très difficile par la faible implication des personnels de laboratoire de l'établissement. Anapath. Labo 2 et 3 : les équipements de protection collective existants ne sont pas contrôlés (sorbonne et hottes notamment, dans lesquelles on manipule du formol et des solvants).

Ces défauts se traduisent par exemple le 18 novembre 2009 par une infection de cellules de lignées par homogénat DAWSON.

- Dans un document RISQUEBIO Prion 1 du 18 novembre 2009 : protocole Extraction de la PrPres à partir de tissus nerveux, sont signalés :
 - « *Type de local incompatible avec le pouvoir pathogène de l'agent biologique. Attention, le PSM II est sensible aux turbulences ce qui peut compromettre la protection du manipulateur. Risque inacceptable; Interdiction de manipuler - Améliorer le confinement. »*
- Document RISQUEBIO Prion 2 du 18 novembre 2009 : protocole Infection cellules de lignées PrPres. Sont signalés :
 - « *Type de local incompatible avec le pouvoir pathogène de l'agent biologique. Attention, le PSM II est sensible aux turbulences ce qui peut compromettre la protection du manipulateur. Risque inacceptable; Interdiction de manipuler - Améliorer le confinement. »*
- Document RISQUEBIO Prion 2 du 18 novembre 2009 : protocole Infection cellules de lignées par homogénat DAWSON. Sont signalés :
 - « *Type de local incompatible avec le pouvoir pathogène de l'agent biologique. Attention, le PSM II est sensible aux turbulences ce qui peut compromettre la protection du manipulateur. Risque inacceptable; Interdiction de manipuler - Améliorer le confinement. »*

Le nouveau laboratoire depuis 2017 :

Bâtiment 10.1 – 2016 -



Il s'agit d'un L3 dont l'étanchéité a été assurée afin de pouvoir le maintenir en dépression permanente. Un autoclave double entrée a été installé à la suite du passage de la commission d'enquête interne INRAE qui fait suite au cas 1. Il est à remarquer que le classement du laboratoire par rapport au référentiel fixé par l'arrêté du 16 juillet 2007 est fait par le gestionnaire du laboratoire lui-même (pas de contrôle externe prévu) ce qui a amené le laboratoire de l'unité IHAP à être considéré comme un L3 par ses utilisateurs alors qu'il n'en possédait pas toutes les caractéristiques (absence d'autoclave double entrée installé depuis).

Son organisation est structurée par groupe de techniques : salle d'histologie, salle de biochimie etc. Les jeux de pipettes sont répartis dans ces salles pour que les utilisateurs utilisent le matériel qu'ils préfèrent.

L'organisation de l'espace est faite par les utilisateurs eux-mêmes pour être le plus adapté en terme d'ergonomie. Cependant, cette organisation répond plus à cette logique d'ergonomie qu'à une réflexion centrée sur la sécurité même si les 2 notions peuvent parfois se rejoindre.

Compte tenu de l'étendue des techniques pratiquées, l'espace devient vite encombré par des appareils et ne permet pas de laisser sous PSM tous les appareils qui le méritent (type PMCA par exemple).

Analyse de l'exposition de l'agent A sur la base de sa production scientifique attestée par la signature d'articles publiés

Au cours de sa carrière à l'IHAP, l'agent A a contribué à seize articles scientifiques sur le prion pour lesquels il figure en tant que signataire. Cela n'exclut pas sa participation à d'autres travaux et donc d'autres situations d'exposition qui ne sont pas analysées dans cette partie du rapport/annexe.

Dans la majorité de ces articles (onze) le matériel infectieux étudié est la tremblante du mouton classique. Dans un cas c'est aussi la tremblante classique qui est étudiée mais dans des conditions qui le rendent plus virulent. Enfin, un article porte sur la tremblante atypique Nor98.

Dans les trois articles restants, publiés en 2006 pour l'un et en 2014 pour les deux autres, le prion de l'encéphalopathie spongiforme bovine est étudié. Parmi les travaux examinés ici, ce sont ceux qui sont susceptibles d'entraîner une pathologie de variant de la maladie de Creutzfeld-Jacob.

L'article le plus ancien (article 16 dans la liste ci-dessous), pour lequel les expériences ont dû être menées avant mai 2005, des expériences d'immunohistochimie ont été réalisées avec un protocole mentionné dans l'article qui ne prévoit pas d'étape d'inactivation à l'acide formique. À noter que deux coupures ont été rapportées par l'agent, l'une à l'index gauche le 28 septembre 2004 avec une lame de verre comportant du matériel non infectieux chez l'humain, l'autre le 21 avril 2005 au pouce gauche avec la lame du microtome. Cette dernière coupure est susceptible d'être à l'origine d'une contamination. En effet, il apparaît dans les tableaux de suivi que l'agent avait coupé un témoin positif BSE la veille et utilisait très probablement la même lame le lendemain. En effet l'habitude dans le laboratoire était de remplacer une lame uniquement lorsqu'elle était émoussée. Il est également important de noter que les échantillons n'étaient pas soumis à une étape d'inactivation.

Le premier article paru en 2014 auquel a participé l'agent traite principalement de la technique d'amplification cyclique du repliement anormal (PMCA) qui génère de fortes concentrations de prion infectieux et est donc une technique qui expose les manipulateurs. Or à l'IHAP elle n'est pas réalisée en PSM. En outre, l'article rapporte qu'il y a eu des contaminations croisées entre échantillons, probablement à l'ouverture des tubes. D'après les responsables scientifiques, l'agent n'aurait pas réalisé de PMCA et sa signature de l'article relèverait d'une habitude collective de l'équipe.

Dans le deuxième article paru en 2014 sont décrites des expériences réalisées avec notamment des inoculations intracérébrales de souris humanisées avec des homogénats d'ESB. Parmi les analyses réalisées, l'agent a probablement réalisé celles de PET blot. D'après le chef d'équipe l'expérience d'histoblot n'a pas été faite à l'IHAP mais à Jouy-en-Josas. Cette dernière technique entraîne la découpe de tissus frais congelés, des manipulations de transfert sur lame puis sur membrane et ensuite seulement une étape d'inactivation. Il s'agit donc d'une expérience qui expose potentiellement le manipulateur.

Articles de recherche sur le prion signés par l'agent A

Les techniques probablement exécutées par l'agent A sont indiqués en rouge

1 : Classical scrapie transmission in ARR/ARR genotype sheep. J Gen Virol. 2017 Aug;98(8):2200-2204. doi: 10.1099/jgv.0.000861. Epub 2017 Jul 19. PMID: 28721847.

Techniques utilisées :

- Immunohistochimie la référence citée ne prévoit pas d'étape d'inactivation à l'acide formique
- Western blot
- Inoculation intracérébrale chez le mouton ARR/ARR et ARQ/ARQ
- Inoculation souris transgénique PrP ovine

Agent infectieux :

- « Isolats » de Tremblante du mouton premier et deuxièmes passages dans la même espèce (mouton) mais avec des fonds génétiques différents

Cet article montre qu'après quelques passages on arrive à rendre malades même les ARR/ARR, indiquant que le matériel ovine devient plus infectieux après ces passages...

2 : Mononucleated Blood Cell Populations Display Different Abilities To Transmit Prion Disease by the Transfusion Route. J Virol. 2016 Jan 13;90(7):3439-45. doi: 10.1128/JVI.02783-15. PMID: 26764000; PMCID: PMC4794699.

Techniques utilisées, laquelle par l'agent A ?

- Inoculation orale d'isolats de tremblante à des moutons
- Prélèvement sanguins sur la jugulaire
- Préparation de cellules mononuclées de sang périphérique
- Transfusion
- Injection intracérébrale dans des souris
- Tri cellulaire
- Western blots

Agent infectieux :

- Tremblante du mouton

3 : Evidence for zoonotic potential of ovine scrapie prions. Nat Commun. 2014 Dec 16;5:5821. doi: 10.1038/ncomms6821. PMID: 25510416.

Article reçu par le journal le 7 août 2014 et accepté le 16 décembre 2014

Techniques utilisées :

- Préparation d'homogénats de cerveaux
- Inoculation intracérébrale de souris humanisées avec des homogénats de tremblante ou d'ESB
- Western blot
- **PET blot (voir article 16)**
- **Histoblot** les cerveaux de souris sont rapidement prélevés et congelés. Des cryosections sont réalisées à 8-10 mm d'épaisseur, transférées sur des lames superfrost (conservées à -20°C) puis transfert sur membrane de nitrocellulose, digestion protéinase K puis dénaturation à l'isothiocyanate de guanidine. N'ont pas été faits au laboratoire IHAP.

Agents infectieux : nombreux isolats humains, bovins et ovins

4 : Preclinical detection of variant CJD and BSE prions in blood. PLoS Pathog. 2014 Jun 12;10(6):e1004202. doi: 10.1371/journal.ppat.1004202. PMID: 24945656; PMCID: PMC4055790.

Article reçu par le journal en mars 2014 accepté en mai et publié en juin.

Techniques utilisées :

- Inoculation orale des moutons
- Séquençage (géotypage)
- Infection intraveineuse de macaques avec vMCJ issus de primates infectés
- Prélèvements sanguins
- Préparation des globules blancs par lyse osmotique
- Prélèvement sanguins humains d'un patient atteint de vMCJ
- Western blot suivi d'immunodétection

- Préparation de lysats de globules rouges
- Souris transgéniques PrP^C bovin, murin, ovin et humain
- Prélèvements des cerveaux de souris transgéniques, préparation d'homogénats (substrats de PMCA)
- PMCA en microplaques ou tubes 0,2 ml ultrafins contenant 8 microbilles de 1mm zirconium/silicium
- Appareillage : « cup horn » misonix 4000 modifié
- 96 cycles d'amplification (30'' sonication, 30' d'incubation), recharge puis nouveau cycle
- Les cycles d'amplification sont réalisées en conditions PCR dans des pièces différentes avec du matériel dédié – à noter que des faux positifs ont été observés dans les réactions réalisés dans les tubes attestant de contaminations croisées des échantillons.

Agent infectieux : Cerveau de moutons ARQ/ARQ infectés avec BSE en conditions expérimentales

5 : Genetic resistance to scrapie infection in experimentally challenged goats. J Virol. 2014 Mar;88(5):2406-13. doi: 10.1128/JVI.02872-13. Epub 2013 Nov 27. PMID: 24284317; PMCID: PMC3958109.

Techniques utilisées :

- Préparation d'un homogénat de cerveau et moelle d'un mouton atteint de tremblante
- Inoculation orale à des chèvres
- Inoculation intracérébrale à des chèvres
- Nécropsies des animaux
- Elisat PrP
- Immunohistochimie PrP référence citée ne prévoit pas d'étape d'inactivation
- Western blot

Agent infectieux : tremblante

6: PrP expression level and sensitivity to prion infection. J Virol. 2014 May;88(10):5870-2. doi: 10.1128/JVI.00369-14. Epub 2014 Feb 26. PMID: 24574409; PMCID: PMC4019126.

Techniques utilisées, laquelle par l'agent A ? il y a de l'histologie systématique pour confirmer le type de souche. Il y a aussi une approche d'équipe sur les signatures.

- Souris transgéniques surexprimant des prions de différentes espèces
- Inoculation intracérébrale de souris transgéniques avec des dilutions sériées d'extraits d'homogénats de tremblante
- Inoculation intracérébrale de moutons avec des dilutions sériées d'extraits d'homogénats de tremblante
- Inoculation orale
- Western blot

Agent infectieux :

Tremblante du mouton

7 : The limits of test-based scrapie eradication programs in goats. PLoS One. 2013;8(1):e54911. doi: 10.1371/journal.pone.0054911. Epub 2013 Jan 23. PMID: 23372789; PMCID: PMC3553010.

Techniques utilisées :

- Autopsie avec prélèvement du tronc cérébral et des organes lymphoïdes
- Immunohistochimie
- Elisa
- Analyses statistiques

Agent infectieux :

- Tissus de chèvres issues de troupeaux atteints de tremblante classique

8 : PrP-associated resistance to scrapie in five highly infected goat herds. J Gen Virol. 2013 Jan;94(Pt 1):241-245. doi: 10.1099/vir.0.047225-0. Epub 2012 Oct 24. PMID: 23100359.

Techniques utilisées :

- Autopsie avec prélèvement du tronc cérébral et des organes lymphoïdes
- **Immunohistochimie selon Lacroux 2007 donc sans inactivation**
- Elisa
- Analyses statistiques
- génotypage par PCR

Agent infectieux :

- Tissus de chèvres issues de troupeaux atteints de tremblante classique

9 : Highly efficient prion transmission by blood transfusion. PLoS Pathog. 012;8(6):e1002782. doi: 10.1371/journal.ppat.1002782. Epub 2012 Jun 21. PMID: 22737075; PMCID: PMC3380953.

Techniques utilisées :

- Inoculation orale de tremblante classique
- Prélèvements de tissus du CNS et du système lymphoïde
- Prise de sang sur les animaux sur animaux « vigiles »
- Séparation de la fraction de globules blancs, fixation PFA 4%, analyse morphologique et par cytométrie de flux
- Transfusion sur moutons anesthésiés de sang complet, de la fraction de globules blancs frais ou fixés
- Titration de la dose infectieuse par inoculation intracérébrale de souris transgéniques Tg338 (surexprime allèle VRQ de PrP de mouton)
- Préparation d'homogénat de globules blancs
- Western Blot
- **Immunohistochimie**

Agent infectieux :

- Tremblante classique
- Isolât PG127 dérivé de moutons VRQ/VRQ infectés expérimentalement

10 : Prionemia and leukocyte-platelet-associated infectivity in sheep transmissible spongiform encephalopathy models. J Virol. 2012 Feb;86(4):2056-66. doi: 10.1128/JVI.06532-11. Epub 2011 Dec 7. PMID: 22156536; PMCID: PMC3302392.

Techniques utilisées :

- Inoculation orale
- Autopsies et prélèvement d'organes du CNS et lymphoïdes
- Prélèvements sanguins
- Préparation de plaquettes
- PMCA
- Western blot
- Dilution des prélèvements sanguins et préparation de la fraction de globules blancs
- Cytométrie de flux
- Dilutions sériées d'homogénats de cerveaux PG127

Agent infectieux :

- Tremblante classique
- Isolat PG127 dérivé de moutons VRQ/VRQ infectés expérimentalement

11 : Impact of leucocyte depletion and prion reduction filters on TSE blood borne transmission. PLoS One. 2012;7(7):e42019. doi: 10.1371/journal.pone.0042019. Epub 2012 Jul 31. PMID: 22860049; PMCID: PMC3409224.

Techniques utilisées :

- Transfusion de moutons avec du sang complet ou des composants sanguins
- Prélèvements sanguins
- Autopsie et prélèvement d'organes CNS et lymphoïdes
- Leucodéplétion à l'aide de deux systèmes commerciaux
- Cryoprécipitation de plasma
- Western blot
- Immunohistochimie selon Lacroux 2007 sans étape d'inactivation
- Génotypage

Agent infectieux :

- Tremblante classique

12 : Atypical/Nor98 scrapie infectivity in sheep peripheral tissues. PLoS Pathog. 2011 Feb 10;7(2):e1001285. Doi: 10.1371/journal.ppat.1001285. PMID: 21347349; PMCID: PMC3037359.

Techniques utilisées :

- Western blot
- Dissection de moutons, prélèvement d'organes périphériques puis de CNS
- Préparation d'homogénats de tissus
- Immunohistochimie
- Elisa
- Pet Blot
- Inoculation intracérébrale chez des souris transgéniques pour le prion ovine
- Dilutions sériées

Agent infectieux :

- Tremblante classique
- Tremblante atypique Nor98

13 : Relevance of oral experimental challenge with classical scrapie in sheep. J Gen Virol. 2010 Aug;91(Pt 8):2139-2144. doi: 10.1099/vir.0.021311-0. Epub 2010 May 5. PMID: 20444991.

Techniques utilisées :

- Inoculation orale
- Immunohistochimie
- PET blot
- Essai immunométrique
- Elisa
- Homogénéisation de tissus

Agent infectieux :

- Tremblante classique

14 : Prions in milk from ewes incubating natural scrapie. PLoS Pathog. 2008 Dec;4(12):e1000238. doi: 10.1371/journal.ppat.1000238. Epub 2008 Dec 12. PMID: 19079578; PMCID: PMC2587713.

Techniques utilisées :

- Western blot
- **Immunohistochimie**
- Elisa
- Immunoprecipitation
- Inoculation intracérébrale de souris transgéniques pour le PrP ovin

Agent infectieux :

- Tremblante naturelle

15 : Dynamics and genetics of PrPSc placental accumulation in sheep. J Gen Virol. 2007 Mar;88(Pt 3):1056-1061. doi: 10.1099/vir.0.82218-0. PMID: 17325381.

Techniques utilisées :

- biopsie d'amygdales
- Autopsie avec prélèvement du tronc cérébral, des organes lymphoïdes et organes reproductifs
- Prélèvement sur les fœtus de cotyledons, chorion, liquide amniotique and cordon ombilical
- **Immunohistochimie : le protocole décrit ne comprend pas d'inactivation à l'acide formique**
- Analyses statistiques
- génotypage par PCR

Agent infectieux :

- tremblante

16 : Bovine spongiform encephalopathy agent in spleen from an ARR/ARR orally exposed sheep. J Gen Virol. 2006 Apr;87(Pt 4):1043-1046. doi: 10.1099/vir.0.81318-0. PMID: 16528056.

Article reçu par l'éditeur le 5 juillet 2005 accepté le 14 décembre 2005.

Techniques utilisées :

- Western blot
- Elisa
- **Immuno-histochimie (selon réf Andréoletti 2002 qui fait une fixation en 4% de formaldéhyde mais ne mentionne pas d'étape d'inactivation)**
- **Paraffine embedded tissue (PET) blot** (réf Schulz-Schaeffer et la 2000) l'article de méthodologie cité explicite bien la fixation à la formaline une étape de « décontamination » à l'acide formique concentré pendant 1h suivi d'une postfixation puis inclusion dans la formaline.

Matériel infectieux :

- Agent BSE passé sur des moutons ARQ/ARQ (puis donné par ingestion à des moutons ARR/ARR)

Historique des pratiques de prévention dont évolution depuis le premier rapport

Un travail de reconstitution des procédures de protection, EPI, traitement des effluents a été fait par l'INRAE et est reproduit ci-dessous :

18 Les informations y figurent de façon abrégée pour permettre de se repérer, mais y sont moins explicites que dans le texte du rapport

Annexe VII, frise chronologique¹⁸

Analyse des activités et conditions d'activité sur les ATIC, UMR IHAP

Date	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021
Lieux	hébergement petits ruminants		pâturages ENVT (animaux en provenance de Langèdre parés) + boxes aux hôpitaux de pathologie du bétail + petit bâtiment aujourd'hui désaffecté à côté de la chaufferie										bergerie A1 (bâtiment 26)												
	autopsie petits ruminants		autopsies en salle d'autopsie "normale" (bâtiment 6-4)										salle d'autopsie "infectieuse" (bâtiment 24)												
	hébergement rongeurs												bico-module L3 Charles River												
	autopsie rongeurs												autopsies dans le bico-module L3 Charles River												
activités de laboratoire											bico-module L3 Charles River → 2004 utilisé jusqu'à 2015 - pas d'activité de laboratoire à proprement parler dans le bico-module, juste des activités en rapport avec les animaux (inoculations, prélèvements)														
	laboratoire d'anatomopathologie du bâtiment 2-2 Langèdre + police sanitaire à partir de 1997										laboratoire d'anatomopathologie du bâtiment 2-2 avec aménagements, contrôle officiel sur animaux SJA sous-outlet de la France courts Hubert Laude (Mutris-Oxyne-Bovins dont 858) diverses souris GM														
Origine animaux	1999-1998: 2 vaches, 2 porcs, 1 chèvre										diverses souris GM														
	travaux sur tremblante ovine naturelle										2 vaches positives ESB														
Souches											échantillons humains (Rangueil)														
											prélèvements en 2006/2007) prison issus de souris humanisées														
Autopsies	par vétérinaires ou assistants vétérinaires										Travail sur ovins 6 caprins, souris GM sur septennat gène PPR ovins, ovins infectés par ESB et souris GM PPR bovine, souris GM1 prion murine, monocyles humains et prion pathogène (de souris et mouton), isolats de VCE														
	par scientifiques anatomopathologistes										souches VCE														
recoupe tissus frais											date imprécise inoculations par voie sanguine (animaux, ovins) (première partie d'un mail, maîtres soustraits sur autopsie saignée)														
											ne fonctionne pas														
MICA											Opérationnelle bâtiment 2-2 pièce 7														
											Transfert bâtiment 18-1														
IHC	Olivier A										Armelie C														
											coupe échantillons paraffinés : Mme C														
Evolution des risques de risque											évaluation des risques : Mme C														
											Document LIHQUE (version papier)														
										Document LIHQUE équipe EST dans OPHI (dont groupe activité histo-pathologie évalué par méthode															
										analyse risque biologique équipe EST (pathogènes L1 et L2, souris GM, autopsies, cultures cellulaires souris, lapin, ovins, échantillon bovin, ovins, caprin...)															
										Maison : L3, L3, EPI, EPC															
										évaluation des risques (méthode) (analyse) (évaluation)															
										étude épidémiologique histopathologie															

Sources : entrées 4/10/21, CR P-BJ entrée DA 31/08 et 2/09/21, document pour évaluation 33C_UH1_3007 - UMR1235, CR CHSCT 1997 et 1998

Cependant cette chronologie doit être prise avec prudence, des témoignages tendant à montrer que l'obligation de port de certaines protections étaient parfois plus une option ou un encouragement qu'une obligation. Par ailleurs cette chronologie INRAE a été construite à partir de la mémoire d'un nombre réduit de personnes. Nos échanges avec les équipes montrent que la mémoire est volatile, sélective et que l'application des mesures a pu être partielle, laissée à l'appréciation des personnes ou a pu se heurter à la réticence individuelle des contraintes.

Accidents / incidents		2 accidents mineurs : - brûlure acide formique au visage (CR classe 6) - gants, yeux endommagés		10 accidents recensés à IHAP toutes équipes depuis 2009 dont 6 ont été évités grâce à l'application de consignes de travail avec notamment enregistrement		Mise à jour 2020/21 origine Mise à jour 2020/21
Équipements	blouse	casque possible, chaussures dédiées, 2 paires de gants	en plus : masque		FFC (Norme NF / PPM) et 3 autres équipes manutention pour certaines équipes	évaluation 2020/21
		nettoyage travail sur hermogéants				
			deux gants anti coupure pour l'histologie > non adaptés			évaluation 2020/21
Formations : sécurité au travail	total pour IHAP : 6 agents (soit 60% du personnel en cas de couverts, réactifs, projection dans les yeux, utilisation topographique...) procédure actuelle : nouveau arrivants : tous les 01 ; informations sur les consignes d'hygiène et sécurité accueil des nouveaux arrivants doit inclure un entretien initial (voir fiche) avec équipe IHAP				le port de protection	check list nouveaux arrivants et sécurité nouveaux arrivants
					évaluation 2020/21	
Déclassements		3 agents IHAP formés à la prévention	11 agents IHAP formés à la prévention	2 agents IHAP formés à la prévention	3 agents IHAP formés à la prévention	évaluation 2020/21
Déchets liquides		utilisation pour OMS				évaluation 2020/21
Divers						évaluation 2020/21

Sources : entretiens 4/18/21, CR P 8J entretien O.A 31/08 et 2/09/21, document pour évaluation TIC_UREI_2007 - UMR1225, CR CHST 1997 et 1998

L'activité d'histologie au microtome est une activité par nature coupante dans toutes les équipes qui la pratiquent. Celle de l'IHAP n'échappe pas à la règle et l'absence de déclarations régulière de coupure apparaît plutôt liée à un déficit d'enregistrement de ces coupures qui ont longtemps été considérées comme faisant partie du quotidien.

L'histologie provoque également des particules de paraffine en contact avec les tissus infectieux, qui peuvent aller contaminer le milieu environnant.

Le nombre très important d'échantillons dont 7 % environ contenait des souches transmissibles à l'homme peut aussi avoir occasionné de multiples projections de particules solides ou de liquides utilisées dans l'activité quotidienne.

Tout cela tend à montrer que les occasions de se contaminer ont sans doute été nombreuses et que toutes les hypothèses déjà explorées par l'INRAE doivent être prises au sérieux.

Globalement on perçoit une évolution dans les mesures de protection avec la progression de l'adaptation des locaux dans le temps.

Historiquement la période avant 1997, était principalement une période d'étude de la tremblante du mouton; les années 97 (le lien entre ESB et vCJD a été fait par les anglais en 1996) à 2000 (diagnostic systématisé des bovins abattus et morts systématisé fin décembre 2000) ont vu une montée en puissance des diagnostics sur les bovins suspect d'ESB (activité ENVT) et l'aide à l'éradication de cette maladie dans le cheptel bovin. L'équipe prion et l'ENVT étaient alors en appui des pouvoirs publics pour conseiller la lutte contre l'ESB et sa transmission à l'homme et pour être acteur en tant que référence sur le diagnostic des animaux suspects d'ESB. En parallèle les bases des recherches ultérieures sur la barrière d'espèce, la physiopathologie, l'épidémiologie de la maladie ESB et ses conséquences se dessinaient.

Les premiers programmes de recherche nécessitant l'utilisation de souris transgéniques ont dû être déposés en 2002, acceptés en 2003 et nécessitant l'installation du « bio-module A3 » en 2003-2004 pour répondre à ce besoin. Les recherches sur le passage de barrière d'espèce se sont enchaînées ensuite avec des souches tremblantes mais aussi des souches ESB transmissibles à l'homme ou des souches humaines (le laboratoire recevait des prélèvements humains provenant d'hôpitaux notamment à Lyon) sur des souris Tg, ces recherches se poursuivant jusqu'au moratoire.

En parallèle, l'analyse des risques faite par les chercheurs était sommaire dans ces années-là et elle s'illustrait par une maxime rapportée par certains techniciens : « *le prion ne va pas te sauter aux yeux* ». L'état de la science à l'époque était que le prion ne se transmettait pas par voie aérienne (toujours le cas en condition naturelle) et qu'il fallait une quantité qui se compte en grammes (avec un s), pensait-on, pour transmettre la maladie à un autre individu par voie orale. Cette dernière notion a été réévaluée malheureusement par les 2 décès français qui semble montrer que des coupures avec peu de matériel infectieux suffit à transmettre la maladie ; une publication de 2021 montre la même chose expérimentalement : l'inoculation de prion dans la pulpe des doigts de primates montre que la dose infectante par cette voie se calcule en mg seulement.

Pour illustrer l'aspect sommaire de l'évaluation des risques prions dans cette période 2000-2018 ou l'évaluation commence vraiment à faire apparaître le risque on peut citer : en mai 2007, le tableau récapitulatif des risques (ancêtre du DUER) note « non maîtrisé » pour le pollen des arbres ou le risque routier lors de déplacement mais présente comme maîtrisé ou acceptable ou non évalué le risque lié au prion :

Globalement sur cette période le risque chimique est appréhendé, mais le risque biologique l'est mal et pas de manière partagée par tous dans une logique d'opposition entre ceux qui le craignent et ceux qui n'y croient pas jusqu'aux années 2018 où le classement 2 de souches prions est abordé dans le DUER

Le document d'analyses de risques du microtome en 2011, prend en compte le risque de coupure mais pas le risque d'inoculation de prion qui en découle.

La prévention vue à travers le DUER s'affine après 2015 : Les DUER (A3 et EST) 2015 sont encore très succincts ; par exemple :

- animaleries A3, pas de risque biologique, ni chimique, ni physique ni de condition de travail particulières ;
- le DU EST 2015 n'identifie aucun risque biologique et 43 risques chimiques :
 - document DU EST de 2018, le groupe 2 de risque est cité mais pas le groupe 3,
 - document DU EST de 2020, le groupe 3 est enfin cité 36 fois, et l'usage du masque enfin cité 11 fois,
 - document DU EST de 2021, le groupe 3 est cité 37 fois et le port du masque 16 fois,
 - document DU du L3 de 2018, groupe 3 est cité 20 fois,
 - document DU L3 de 2020, groupe 3 est cité 21 fois,
 - document DU L3 de 2021, groupe 3 est cité 21 fois.

L'ensemble de ces éléments montre une appréciation institutionnelle du risque de transmission du prion à la pailleasse assez récente par rapport à l'historique des recherches. Les entretiens de la première mission confortent cette analyse du fait que les chercheurs ont pris conscience de ce risque après la succession des 2 accidents de laboratoire INRAE.

Depuis 2019, les 2 principales évolutions dans la protection des personnels mises en place sont le port du masque FFP2 ou de visières à l'intérieur du L3 et le port de gants anti-coupures de manière systématique lors des manipulations au microtome. Le port du masque chirurgical ou FFP2 semble être encore laissé à l'initiative des agents d'après les auditions des gens à la pailleasse que nous avons faite alors qu'il semble être répertorié comme une règle (FFP2 ou visière) dans le document établi par l'INRA en auditionnant le chef d'équipe ; un tel point devrait faire l'objet d'un écrit clair par exemple sur un document sur le port des EPI. Ceci souligne l'absence ou la faiblesse de procédures qualité de référence qui permettent de tracer les pratiques et les obligations dans une logique, « je fais ce que j'écris et j'écris ce que je fais ».

Le port de gants anti-coupures sur le poste microtome n'a pas empêché une coupure avec une lame de cet appareil par la technicienne du microtome début 2021, en retirant le bloc qu'elle avait oubliée sur la platine du microtome, et cela après s'être déséquipée de ses gants anti-coupure.

Le port des EPI est maintenant assez complet mais peut sans doute encore être complété sur quelques points en comparant les pratiques avec celles d'autres sites :

- par exemple les gants utilisés sont des gants à poignets longs afin de se recouvrir avec la blouse ; cependant l'utilisation de manchettes sous PSM de type 2 permettrait de mieux assurer l'étanchéité dans cette enceinte où on protège la manipulation et le manipulateur ;
- les blouses dans le laboratoire sont des blouses de protection qui peuvent s'ouvrir dans le dos et elles sont réutilisées sur 1 semaine ; La consigne est bien que si des projections visibles l'ont souillée on ne la réutilise pas, mais un principe de blouses non réutilisées une fois retirées apporterait sans doute un gain de sécurité.

Les pratiques à risque semblent petit à petit être reprises en propre par le chercheur pilote de l'équipe (inoculation IC qui au début étaient déléguées, ne le sont plus du tout ; recoupe des tissus qui sont dévolues aux cadres) mais cette évolution ne semble pas s'accompagner d'une réflexion sur la protection de tous (y compris du chercheur lui-même) indépendante des aspects de recherche qui serait vraiment garante de la sécurité de tous.

Une réflexion sur l'implantation des appareils au sein des laboratoires du L3 tournée vers la sécurité mériterait également d'être formalisée.

Enfin l'installation de l'autoclave double entrée dans le laboratoire L3 a amené à revoir les procédures d'élimination des déchets.

1. Éléments réglementaires et pratiques sur les mesures de biosécurité Prion en Europe et dans le monde

1.1. Recommandations de l'organisation mondiale de la santé

Un premier rapport¹ datant de 1997 émet des recommandations pour minimiser les risques de contamination pour l'homme à partir de produits ou de dispositifs médicaux dérivant de matériel bovin ainsi que les mesures pour minimiser les risques de contamination pour l'homme avec du matériel d'origine humaine.

Depuis d'autres rapports présentent entre autres les directives de l'OMS² sur la lutte contre les infections par les encéphalopathies spongiformes transmissibles portent sur la prévention de l'exposition iatrogène et nosocomiale encéphalopathies spongiformes transmissibles mais n'abordent pas le cas de la recherche expérimentale telle que menée dans les laboratoires de recherche concernés par le moratoire. Dans ces environnements, les recommandations élémentaires de prévention dans les laboratoires de recherche sont appliquées, sans être exhaustive la mission attire l'attention sur les suivantes :

- le port d'une combinaison, une blouse ou un uniforme de laboratoire pour le travail et l'enlever et envisager l'utilisation de blouses jetables; les blouses non jetables doivent être décontaminées par des méthodes appropriées ;
- porter des lunettes de sécurité, des écrans faciaux (visières) ou d'autres dispositifs de protection nécessaire pour protéger les yeux et le visage des éclaboussures et des particules.
- le port des gants appropriés aux activités ;
- dans la mesure du possible, éviter ou réduire l'utilisation d'objets tranchants (aiguilles, couteaux, ciseaux et verrerie de laboratoire), et utiliser des articles jetables à usage unique ;
- toutes les procédures techniques doivent être exécutées de manière à réduire au minimum la formation d'aérosols et gouttelettes ;
- tous les déversements ou accidents qui sont manifestes ou qui pourraient entraîner une exposition à des matières infectieuses doivent être signalés immédiatement au superviseur du laboratoire, et un dossier écrit est conservé ;
- le superviseur du laboratoire doit s'assurer que la formation adéquate en matière de sécurité du laboratoire est offerte et que les pratiques et les procédures soient comprises et suivies.

En termes de techniques, seules les conditions d'histopathologies peuvent être directement transposées. Ainsi, précisant que les tissus fixés restent infectieux, l'OMS recommande depuis l'année 2000 en histopathologie un traitement post fixation de tranches de 4 à 5 mm d'épaisseur à l'acide formique 95 % pendant 1 h avant de remettre dans du formaldéhyde, puis de procéder à l'inclusion dans la paraffine. Il considère que les sections traitées à l'acide formique peuvent être coupées sur un microtome normal alors que pour les sections non traitées il est recommandé de les couper sur des appareils dédiés.

La conduite à suivre en cas d'accident exposant à la matière infectieuse proposée est selon les cas :

- contamination de la peau intacte par des liquides ou des tissus internes du corps : laver avec détergent et quantités abondantes d'eau chaude (éviter de frotter), rincer et sécher. Une brève exposition d'une minute à 0,1 N de NaOH ou une dilution de 1 : 10 de l'eau de Javel, peut être considérée pour une sécurité maximale ;
- piqure ou lacérations : encouragez doucement le saignement; lavez (évitez de frotter) à l'eau chaude savonneuse, rincer, sécher et couvrir d'un pansement imperméable ;
- éclaboussures dans l'œil ou dans la bouche : rincer avec de l'eau saline (œil) ou du robinet (bouche).

¹ WHO/EMC/ZOO/97.3, WHO/BLG/97.2.

² WHO/CDS/CSR/APH/2000.3.

Les lignes directrices en matière de santé et de sécurité obligent à signaler les blessures et les dossiers devraient être gardés pendant pas moins de 20 ans.

1.2. En Europe le prion est considéré un agent pathogène classé au niveau 3 à l'exception de la tremblante

La directive 2000/54/CE du parlement européen et du conseil du 18 septembre 2000 concernant la protection des travailleurs contre les risques liés à l'exposition à des agents biologiques au travail classe le prion comme agent à risque de niveau 3 à l'exception de la tremblante du mouton. Il est précisé que du fait de l'absence de transmission aéroportée c'est aux États membres d'évaluer « *les mesures de confinement à appliquer à ces agents biologiques compte tenu de la nature des activités spécifiques en question et de la quantité de l'agent biologique concerné, en vue de déterminer si, dans des circonstances particulières, il peut être renoncé à certaines de ces mesures* ».

La mission s'est rendue dans deux pays européens, l'Italie et l'Espagne, pour prendre connaissance des réglementations qui y sont en vigueur, de constater les pratiques de laboratoire et d'échanger à leur sujet.

1.2.1. En Italie une large concertation a abouti à l'élaboration d'un guide de bonnes pratiques

Les directives nationales sont établies au niveau du ministère de la santé qui, dans ce pays, comprend également la santé vétérinaire. Les laboratoires universitaires souhaitant réaliser des recherches sur les encéphalopathies spongiformes animales doivent demander une autorisation préalable.

Les locaux dans lesquels sont réalisés les expériences doivent respecter les normes de sécurité définies dans le « *texte unique de santé et sécurité au travail* » du ministère du travail. Un chapitre dédié à l'exposition aux agents biologiques précise l'obligation de déclaration aux autorités de vigilance locales pour les agents de classe 2 et 3³ avec une obligation de mise à jour à chaque changement qui entraînerait une variation significative du risque pour la santé au poste de travail ou en tout cas à chaque fois qu'il y a intention de travailler sur un nouvel agent classé de manière provisoire par l'employeur. Sont également précisées les mesures techniques, organisationnelles et procédurales liées à l'obligation de réduction des risques ainsi que les mesures d'hygiène applicables. Des mesures spécifiques sont prévues pour les laboratoires de recherche et les animaleries qui précisent en particulier que pour tout agent biologique pas encore classifié mais dont l'utilisation est susceptible de faire surgir un risque grave pour la santé des travailleurs, l'employeur doit adopter les mesures correspondant au moins au troisième niveau de confinement avec la possibilité pour le ministère du travail d'imposer des mesures de confinement supérieures, après avis de l'institut supérieur de santé.

Une concertation large au sujet de la biosécurité prion. À la suite du cas de contamination probable en Italie, la direction générale de la santé animale et des médicaments vétérinaires du ministère de la santé a organisé une concertation pour réaliser ce que l'on peut assimiler à un guide de bonnes pratiques pour les laboratoires de dépistage vétérinaire, dont la première version date de 2017 et la deuxième version mise à jour de mars 2021, l'objectif étant d'uniformiser les pratiques des laboratoires⁴ et, par-là, s'assurer d'une meilleure sécurité.

Le guide se veut non contraignant et vise la structuration des situations de sécurité de la conception du laboratoire jusqu'aux pratiques de manipulation expérimentale et le démantèlement. Il faut noter que, même si des activités de recherche sont conduites dans ces laboratoires, l'éventail des expériences réalisées est réduit par rapport au laboratoire INRAE principalement concerné par ce rapport.

Après une introduction présentant les encéphalopathies spongiformes transmissibles et les prions, le document aborde la classification des prions dans les groupes à risques en reprenant celle de la commission européenne (directive 2000/54/CE) et les niveaux de confinements recommandés.

Indépendamment de la classification un travail d'identification des mesures de sécurité spécifiques, basé sur une analyse des risques attentive prenant en compte la nature du pathogène a été réalisée, associant tous

³ Les agents de classe 4 devant être déclarés directement au ministère du travail, de la santé et des politiques sociales.

⁴ Propos de la représentante du ministère de la santé.

les laboratoires et tous les agents concernés : scientifiques, techniciens, préventeurs, agents en charge du ménage.

Les principaux risques identifiés corrélés aux activités de diagnostic rapide sont les blessures par coupure, par inoculation et par ingestion accidentelle et oriente le personnel vers un strict respect des « bonnes pratiques de laboratoire ». Évoquant les études récentes qui pointent une possible transmission par inhalation des maladies à prions, il est recommandé que l'homogénéisation des tissus cérébraux potentiellement contaminés soit réalisée sous PSM de manière à contenir la production éventuelle de gouttelettes ou aérosols.

Étant donnée la résistance des prions aux traitements d'inactivation habituels, l'importance des procédures de nettoyage et de désinfection ainsi que de la gestion des déchets est soulignée. L'utilisation de matériel à usage unique et l'incinération des déchets sont recommandés autant que possible, le matériel qui n'est pas à usage unique devant être dédié et décontaminé après utilisation.

Le document est synthétique (7 pages) Il aborde les procédés de décontamination des instruments qui sont présentés en ordre d'efficacité décroissant les procédures de décontamination des surfaces et la gestion des expositions accidentelles. Il est complété par trois tableaux qui reprennent respectivement :

- les maladies à prion et leur étiologie probable ;
- les mesures associées au niveau de confinement avec pour certaines des recommandations de principe dont l'application peut être sujette à une évaluation des risques ;
- les minimas requis pour la conception, les caractéristiques techniques, les équipements de sécurité, pratiques de travail et gestion des déchets dans les laboratoires de tests rapides EST.

À noter que la procédure en cas d'accident diffère des procédures appliquées en France. En Italie, il est conseillé de nettoyer à l'eau savonneuse. En cas de plaie il est prescrit de faciliter le saignement et nettoyer la partie atteinte avec du NAOH 1N puis rincer avec de l'eau.

Le guide recommande également le traitement par l'acide formique des tissus fixés pour réduire la charge infectieuse.

Enfin, tout accident doit être remonté au service prévention et protection.

1.2.2. En Espagne, le décret royal 664/1997 transpose la directive 90/679 CEE, l'Institut national de sécurité et santé au travail (INSST) publie des documents supports. Des services prévention sont en charge de ces questions dans les universités

Des documents supports en déclinaison de la réglementation. Les obligations de l'employeur et l'organisation en matière de santé et sécurité au travail sont définies dans La Loi 31/1995, du 8 de novembre 1995, de « prévention de risques au travail » (PRL).

La directive européenne 90/679/CEE sur la prévention des salariés au risque biologique a été transposée par le décret royal (RD) 664/1997, sur la protection des travailleurs contre les risques en lien avec l'exposition aux agents biologiques.

Les missions de l'INSST, en collaboration avec les organes techniques des Communautés autonomes sont définies dans L'article 8 de la loi 31/1995 sur la prévention des risques professionnels (LPRL). Il joue notamment un rôle d'information et de sensibilisation en matière de prévention des risques professionnels. Celles-ci, pour certaines sont proches de celles la direction générale du travail⁵.

⁵ « 1. *Conseils techniques pour l'élaboration de la législation et le développement de la normalisation, tant au niveau national qu'international.*

2. *Promotion et, le cas échéant, mise en œuvre d'activités de formation, d'information, de recherche, d'étude et de vulgarisation en matière de prévention des risques professionnels, avec une coordination et une collaboration appropriées, le cas échéant, avec les organes techniques en matière préventive des communautés autonomes dans l'exercice de leurs fonctions dans ce domaine.*

3. *Appui technique et collaboration avec l'Inspection du travail et de la sécurité sociale dans l'exercice de sa fonction de surveillance et de contrôle dans le cadre de l'Administration générale de l'État.*

4. *Collaboration avec des organismes internationaux et élaboration de programmes de coopération internationale dans ce domaine, en facilitant la participation des communautés autonomes.*

L'article 5, paragraphe 3, du décret royal 39/1997 du 17 janvier portant sur le règlement des services de prévention (RSP) prévoit la possibilité d'utiliser des guides de l'Institut national de sécurité et d'hygiène du travail « *lorsque l'évaluation nécessite des mesures, des analyses ou des essais et que la réglementation n'indique pas ou ne précise pas les méthodes à utiliser, ou lorsque les critères d'évaluation prévus par cette réglementation doivent être interprétés ou précisés à la lumière d'autres critères de nature technique* ». Par ailleurs la première disposition finale du décret royal 664/1997 établit que « *L'Institut national de la sécurité et de l'hygiène du travail, conformément à l'article 5, paragraphe 3, du décret royal 39/1997⁶, du 17 janvier, portant approbation du règlement des services de prévention, élabore et tient à jour un guide technique, de caractère non contraignant, pour l'évaluation et la prévention des risques liés à l'exposition à des agents biologiques pendant le travail* ».

C'est dans ce cadre que L'INSS a rédigé un guide technique (mis à jour en août 2013) qui vise à faciliter l'application de l'arrêté royal susmentionné en fournissant des critères et des informations techniques pour l'évaluation et la prévention des risques liés à l'exposition à des agents biologiques pendant le travail. La mise à jour inclut les particularités de l'ordonnance ESS/1451/2013, du 29 juillet, portant dispositions pour la prévention des lésions causées par des instruments tranchants et piquants dans le secteur sanitaire et hospitalier.

Ce guide reprend différentes thématiques et se veut un outil pour les employeurs (évaluation du risque, formation, classification des agents, locaux confinés...).

Le terme « priones » apparaît neuf fois exclusivement pour rappeler les spécificités en matière de décontamination (physique et chimique) et les barèmes d'autoclavage.

L'INSS a également décliné une fiche spécifique (NPT 613-200X) « *Encéphalopathies spongiformes transmissibles : prévention des risques face aux agents causants* ». LES NPT sont des guides de bonnes pratiques. Leurs indications ne sont obligatoires que si elles sont reprises dans une disposition réglementaire en vigueur

Cette fiche recommande de garder les dossiers médicaux le maximum de temps prévu par le décret royal (40 ans), de limiter l'usage des coupants, piquants et tranchants et précise notamment « *En cas de blessure pendant le travail (découpe, piqûre, etc.) : faire saigner, laver ensuite avec du savon et recouvrir avec un matériau imperméable. Protection du visage (principalement les yeux et la bouche) s'il y a un risque d'éclaboussures (visière, écran facial) En cas d'éclaboussure dans les yeux : lavage abondant à l'eau courante pendant au moins 10 minutes Des mesures appropriées doivent être prises pour éviter la production d'aérosols et de poussières à partir de matières potentiellement contaminées* »

5. Assurer la coordination, soutenir l'échange d'informations et d'expériences entre les différentes administrations publiques et, en particulier, encourager et soutenir la réalisation d'activités de promotion de la sécurité et de la santé par les communautés autonomes. En outre, fournir un appui technique spécialisé en matière de certification, d'essai et d'accréditation, en accord avec les administrations compétentes.

6. En ce qui concerne les institutions de l'Union européenne, l'Institut national de la sécurité et de l'hygiène du travail sert de point de référence national, assurant la coordination et la transmission des informations fournies au niveau national, notamment en ce qui concerne l'Agence européenne pour la sécurité et la santé au travail et son réseau.

7. La direction de l'Institut national de la sécurité et de l'hygiène du travail assure le secrétariat de la Commission nationale de la sécurité et de la santé au travail en lui fournissant l'assistance technique et scientifique nécessaire au développement de ses compétences.

8. Les activités qui, pour l'accomplissement de ses buts, lui sont confiées dans le cadre de ses compétences, en accord avec la Commission nationale de la sécurité et de la santé au travail, avec la collaboration, le cas échéant, des organes techniques des communautés autonomes. »

⁶ « *Lorsque l'évaluation nécessite des mesures, des analyses ou des essais et que la réglementation n'indique pas ou ne précise pas les méthodes à utiliser, ou lorsque les critères d'évaluation visés par cette réglementation doivent être interprétés ou précisés à la lumière d'autres critères de nature technique, les méthodes ou critères repris dans : a) Normes UNE. b) Guides de l'Institut national de la sécurité et de l'hygiène du travail, de l'Institut national de silicose et protocoles et guides du Ministère de la santé et de la consommation, ainsi que des institutions compétentes des communautés autonomes. c) Normes internationales. d) En l'absence de ceux-ci, des guides d'autres entités réputées en la matière ou d'autres méthodes ou critères professionnels décrits dans les documents qui satisfont aux exigences du paragraphe 2, premier alinéa, du présent article et offrent un niveau de confiance équivalent* ».

Le niveau de confinement des locaux y est abordé (Mesures spéciales applicables aux procédés industriels, aux laboratoires et aux locaux pour animaux). « *Dans les laboratoires, y compris les laboratoires de diagnostic et de recherche, des mesures de confinement doivent être prises, considérant qu'il s'agit d'agents du groupe 3, conformément à l'annexe IV, et notamment : la manipulation de ces agents ne doit avoir lieu que dans des zones de travail correspondant au niveau de confinement 3. En particulier, conformément à la note (i) (pour le travail en laboratoire, des mesures de protection sont recommandées pour les agents classés dans le groupe 3(*) bien qu'il n'existe pas de preuve concluante d'infections humaines causées par les agents responsables des TSE chez les animaux (à l'exception de l'agent de la tremblante, "scrapie", chez les ovins, pour lesquels un niveau de confinement 2 sera suffisant) ».*

Plus spécifiquement, pour les laboratoires il est indiqué « *En général, le personnel qui effectue ce type d'activités est considéré comme à haut risque, de sorte que tout ce qui est établi dans la section Réglementation et Aspects préventifs doit être strictement respecté, notamment en ce qui concerne l'adoption de mesures de confinement, correspondant au niveau 3 pour toutes les TSE (à l'exception du "scrapie"). Des précautions particulières doivent être prises lors de la manipulation des instruments et du matériel de laboratoire et/ou médico-chirurgical contaminés ».*

Des services de prévention institués par la Loi. La Loi 31/1995, du 8 novembre, de prévention de risques au travail traite en son article 30 de la mise en place de services de prévention⁷.

Un focus a été fait sur 3 universités Madrilénes (universidad complutense Madrid, universidad autonoma de Madrid, universidad Carlos III de Madrid) qui disposent toutes d'un service prévention.

Les missions décrites sont très proches de celles des services/directions prévention des établissements universitaires français (accompagnement à l'évaluation des risques, formations, veille au respect de la réglementation...).

Suite au deuxième cas en France, un groupe de travail a été lancé récemment pour réviser les procédures dans tous les laboratoires espagnols qui travaillent sur le prion. Il s'agit d'une initiative collective entre équipes, avec participation des gens de terrain et les directeurs de laboratoire. Les équipes ont convenu de réaliser un guide de bonnes pratiques.

⁷ « 1. Dans l'accomplissement de l'obligation de prévention des risques professionnels, l'employeur désigne un ou plusieurs travailleurs pour s'occuper de cette activité, constitue un service de prévention ou conclut ce service avec une entité spécialisée extérieure à l'entreprise.

2. Les travailleurs désignés doivent avoir la capacité nécessaire, disposer du temps et des moyens précis et être en nombre suffisant, compte tenu de la taille de l'entreprise ainsi que des risques auxquels sont exposés les travailleurs et de leur répartition dans l'entreprise, dans la mesure prévue par les dispositions visées à l'article 6, paragraphe 1, point e), de la présente loi.

Les travailleurs visés à l'alinéa précédent collaborent entre eux et, le cas échéant, avec les services de prévention.

3. Pour la réalisation de l'activité de prévention, l'employeur doit donner aux travailleurs désignés l'accès aux informations et documents

4. Les travailleurs désignés ne peuvent subir aucun préjudice résultant de leurs activités de protection et de prévention des risques professionnels dans l'entreprise. Dans l'exercice de cette fonction, ces travailleurs bénéficient notamment des garanties prévues pour les représentants des travailleurs à l'article 68, points a), b) et c), et à l'article 56, paragraphe 4, du texte refondu de la loi sur le statut des travailleurs.

Cette garantie s'applique également aux travailleurs faisant partie du service de prévention, lorsque l'entreprise décide de le constituer conformément aux dispositions de l'article suivant.

Les travailleurs visés aux alinéas précédents doivent être discrets sur les informations relatives à l'entreprise auxquelles ils avaient accès du fait de l'exercice de leurs fonctions.

5. Dans les entreprises comptant jusqu'à dix travailleurs, l'employeur peut assumer personnellement les fonctions visées au paragraphe 1, pour autant qu'il exerce habituellement son activité sur le lieu de travail et qu'il ait la capacité nécessaire, en fonction des risques auxquels sont exposés les travailleurs et de la dangerosité des activités, dans la mesure prévue par les dispositions visées à l'article 6.1 e) de la présente loi. La même possibilité est reconnue à l'employeur qui, en remplissant ces conditions, occupe jusqu'à 25 travailleurs, pour autant que l'entreprise dispose d'un seul centre de travail.

6. L'employeur qui n'a pas conclu le service de prévention avec une entité spécialisée extérieure à l'entreprise doit soumettre son système de prévention au contrôle d'un audit ou d'une évaluation externe, dans les termes qui sont réglementairement déterminés.

7. Les personnes ou entités spécialisées qui entendent exercer l'activité d'audit du système de prévention doivent être munies d'une autorisation unique de l'autorité du travail, valable sur tout le territoire espagnol. L'expiration du délai maximal de la procédure d'autorisation sans qu'une décision expresse ait été notifiée à l'intéressé permet de considérer que la demande est rejetée par silence administratif, afin d'assurer une protection adéquate des travailleurs »

1.3. Un document de référence prion et une organisation intégrée de la biosécurité en Belgique

En 2013 une revue des connaissances sur la pathogénèse, la transmission et la persistante du prion en dehors de l'hôte a été réalisée par les acteurs de la santé publique et vétérinaires en Belgique avec un focus particulier sur l'évaluation des risques et la gestion des mesures de biosécurité à mettre en œuvre dans ce pays⁸. Il explicite aussi les conditions de décontamination et de démantèlement d'installations des centres de diagnostic des encéphalopathies spongiformes transmissibles.

Ce document sert encore aujourd'hui de référence à Sciensano, qui est à la fois un centre de recherche et l'institut de santé publique belge conçu dans une approche OneHealth à partir de la fusion en 2018 de l'ancien Centre d'Étude et de Recherches Vétérinaires et Agrochimiques (CERVA) et de l'ex-Institut scientifique de Santé publique (ISP). Il est agréé comme organisme de recherche et a un statut similaire à nos EPICs. Cette institution gère un serveur qui regroupe toutes les informations sur la biosécurité, le « Belgian biosafety server »⁹.

1.4. En Grande Bretagne un comité consultatif sur les agents pathogènes élabore des guides de la biosécurité généralistes mais aussi des directives spécifiques Prion enrichies au fil du temps

Comité consultatif sur les agents pathogènes dangereux : il s'agit d'un comité d'experts¹⁰ du ministère de la santé et des affaires sociales (DHSC). Son travail est transversal à plusieurs organisations dont le Health and Safety Executive (HSE), Public Health England (PHE) et le Department for Environment, Food and Rural Affairs (Defra).

Ce comité est chargé de fournir, sur demande, des conseils scientifiques indépendants au HSE et aux ministres par l'intermédiaire du DHSC, du Defra et de leurs homologues¹¹, sur tous les aspects des dangers et des risques pour les travailleurs et autres dus à l'exposition à des agents pathogènes. Comme pour d'autres maladies, il fournit, sur demande, des conseils sur l'évaluation des risques concernant les encéphalopathies spongiformes transmissibles (EST) aux ministres par l'intermédiaire du DHSC, du Defra et de leurs homologues, et à la Food Standards Agency.

Dans ce pays fortement frappé par la crise dite de la vache folle, un sous-groupe dédié EST a fonctionné jusqu'en 2019. Il était chargé de fournir des conseils pratiques et scientifiques sur la gestion des risques liés aux EST, afin de limiter ou de réduire les risques d'exposition humaine ou transmission des EST dans les établissements de santé et autres milieux professionnels. Tous les travaux ont été ramenés au comité principal de l'ACDP en tant que point permanent de l'ordre du jour.

Après la révélation des trois cas d'apparition du variant de la maladie de Creutzfeld-Jakob chez des personnels de recherche européens, le sous-groupe TSE¹² a repris ses travaux pour réviser les directives afin de travailler en toute sécurité avec les prions et évaluer si des mesures sont nécessaires pour travailler avec les dépôts protéopathiques (appellation retenue par le comité pour désigner les prion-like).

Les nouvelles directives émises par le groupe, publiées le 18 novembre 2021 sur le site du gouvernement britannique¹³, distinguent en particulier le travail avec des tissus ou fluides du système nerveux central de celui avec des échantillons de recherche qui contiennent de hautes concentrations de prions qu'ils soient obtenus in vivo ou in vitro. Ces derniers devant être manipulés dans des laboratoires spécialisés avec des politiques strictes à distinguer des conditions de diagnostic sur des fluides et tissus à bas risque issus de patients suspectés de la maladie de Creutzfeld-Jakob.

⁸ <http://dx.doi.org/10.4161/pri.26533>

⁹ <https://www.sciensano.be/fr>

¹⁰ Composé de seize membres issus de différentes institutions universitaires ou de santé, une personnalité qualifiée à la retraite et un observateur du ministère de la défense.

¹¹ Dans le cadre de la dévolution en Écosse, au Pays de Galles et en Irlande du Nord.

¹² Le sous-groupe TSE actuel est composé de 12 membres.

¹³ <https://www.gov.uk/government/publications/guidance-from-the-acdp-tse-risk-management-subgroup-formerly-tse-working-group>

Sans reprendre en détail l'intégralité des conditions décrites que la mission recommande d'adopter en France, elle tient à attirer l'attention sur quelques points qui ont été soulevés lors de ses visites et échanges en France.

1.4.1. Les prions non caractérisés sont classés en niveau 3 par mesure de précaution

Le classement des prions en catégories à risque est réalisé en fonction des connaissances disponibles, en l'absence de preuves concernant leur niveau de pathogénicité pour l'homme ils sont classés en niveau de dangerosité 3. Comme en France, les prions de tremblante sont classés au niveau 2, le cas de la tremblante atypique étant classé à ce même niveau. À noter que la souche de prion américaine de la maladie du dépérissement chronique du cervidé qui est bien caractérisée est classée en niveau 2 alors que la souche européenne moins caractérisée reste au niveau 3.

Les souches de prion de laboratoire sont classées au niveau de dangerosité 3 : toute souche propagée dans des primates ou dans des animaux génétiquement modifiés pour exprimer le gène PrP humain (avec ou sans mutations) ou d'autres séquences PrP dont on pourrait prédire qu'elles peuvent adopter des souches transmissibles aux humains, ainsi que des souches de prions humains propagées dans n'importe quelle espèce.

Le cas des prion-like ou « dépôts protéopathiques » pris en compte inclut uniquement les protéines associées à des maladies neurodégénératives humaines (Le peptide beta-amyloïde, la protéine Tau associée aux microtubules, l'alpha-synucléine, TDP-43 et FUS). Il est rappelé que la transmission interhumaine a été observée uniquement pour la bêta-amyloïde dans des circonstances bien précises. Elles sont toutes classées en niveau de dangerosité 2.

1.4.2. L'évaluation des risques et les niveaux de confinement

Le guide sur les prions décrit la démarche d'évaluation des risques, les niveaux de confinement recommandés avec un traitement en niveau 3* de toutes les souches non caractérisées. Le confinement de niveau 3 classique ou de niveau 4 n'est envisagé dans aucune situation.

Pour la description détaillée des différentes catégories de locaux il faut se référer au guide général *Management and operation of microbiological containment laboratories*¹⁴ qui définit les règles de sécurité applicables dans les laboratoires. Ces directives s'appliquent aux travaux d'utilisation confinée dans tous les types de laboratoires où des agents biologiques sont manipulés, y compris les laboratoires de recherche, d'enseignement, cliniques, médicolégaux, vétérinaires et environnementaux. Il a été rédigé par le Comité consultatif sur les agents pathogènes dangereux qui le destine en premier lieu aux personnes responsables de la gestion, de la supervision, de l'évaluation et de la coordination des travaux dans les laboratoires de confinement microbiologique. Le comité estime que le guide peut également être utile aux agents de sécurité biologique et les autres professionnels de la sécurité qui fournissent des conseils compétents à leur employeur. Il est conseillé de le consulter avant tout changement de fonction, mise à niveau ou construction d'installations à utiliser pour les travaux susmentionnés.

Ce guide n'aborde pas les cas spécifiques des différentes catégories de pathogènes pour lesquels il renvoie vers les recommandations de la ressource internationale (INRIC)¹⁵.

À chaque changement de conditions de confinement une évaluation des risques locaux doit être réalisée et approuvée par le responsable de la santé et de la sécurité. Des précisions sont données sur les points à examiner.

Parmi les équipements de protection individuelle, figurent les gants avec le port de gants adaptés quand des instruments tranchants sont utilisés. Pour se protéger de projections, une protection des yeux ou une visière doivent être portées ainsi que des blouses hydrofuges ou un tablier plastique jetable par-dessus la blouse.

Chaque utilisation de tranchant doit faire l'objet d'une évaluation des risques.

¹⁴ <https://www.hse.gov.uk/biosafety/management-containment-labs.pdf>

¹⁵ <https://www.nric.org.uk/node/53983>

Dans les laboratoires de diagnostic et en neuropathologie les échantillons de cerveau et de moelle épinière doivent être traités en laboratoire de classe 3 ou 3* jusqu'à la fixation au formol et le traitement à l'acide formique. Il est souligné que l'efficacité de l'inactivation à l'acide formique sur des tissus pas fixés au formol n'a pas été démontrée. L'application de cette mesure aux laboratoires de recherche n'est pas explicitée.

1.4.3. Le traitement des accidents

Un paragraphe est dédié au traitement des accidents avec une formation et la vérification des compétences y est abordée.

En cas d'inoculation avec des prions ou des dépôts protéopathiques il est recommandé d'inciter au saignement par un doux lavage avec de l'eau tiède savonneuse et de ne pas frotter. De même que toute contamination de la peau doit être éliminée avec de l'eau savonneuse. Il est recommandé de ne pas utiliser de désinfectants sur les coupures ou la peau abimée car ils sont susceptibles d'aggraver la blessure et d'interférer avec la réaction de défense locale du corps.

Un registre des accidents doit être tenu pour toute dispersion potentielle dans l'environnement. Un registre local des incidents individuels d'inoculation ou de projection sur les muqueuses (par exemple sur le visage) avec des prions ou des dépôts protéopathiques doit être renseigné.

1.4.4. Le suivi des personnels

Concernant le suivi des personnels la Grande-Bretagne impose d'une part une tenue des listes des personnels exposés aux prions classée à partir du niveau de dangerosité 3 et d'autre part une surveillance médicale limitée à la mise en place et au maintien de carnets de santé individuels des agents possiblement exposés au EST. Les employeurs sont tenus d'assurer une veille sur toute nouvelle technique qui serait développée et l'adopter de manière adéquate.

Concernant la tenue de listes de personnels exposés à des dangers, cette obligation de l'employeur est définie dans des règlements de 2002 « Contrôle des substances dangereuses pour la santé (COSHH) » qui établissent un cadre d'actions conçu pour contrôler le risque d'une gamme de substances dangereuses y compris les agents biologiques. La classification de la dangerosité des agents manipulés est établie séparément ce qui facilite l'intégration de nouveaux agents et l'adaptation dynamique en fonction de l'évolution des connaissances.

1.5. Aux États-Unis les directives émises par le NIH imposent des comités de biosécurité dans les institutions d'enseignement supérieur et de recherche

Les Centres de contrôle et de prévention des maladies du National Institute of Health (NIH) a émis des directives pour la création de comités de biosécurité institutionnels pour examiner la recherche impliquant l'ADN recombinant et la recherche sur les acides nucléiques synthétiques. Généralement, ces comités examinent également toutes les recherches impliquant des matériaux présentant un risque biologique et assument la responsabilité globale des programmes de biosécurité. Les comités biosécurité de plusieurs universités des États-Unis ont réalisé des guides qui abordent la recherche sur le prion, la mission en a consulté plusieurs (voir infra).

Le NIH édite ainsi un manuel Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories dont la sixième édition est parue en juin 2020. Contrairement à la pratique britannique qui sépare les documents réglementaires permettant leur évolution indépendante, ce document unique aborde toutes les facettes de l'évaluation des risques, des mesures de prévention, la classification des pathogènes etc.

Il traite en Section VIII-H page 355 des maladies à prions. Il mentionne en particulier la recommandation de certains chercheurs d'immerger les tissus suspects d'être contaminés dans de l'acide formique à 96% ou phénol pendant 30 minutes avant les traitements en histopathologie tout en précisant que cela peut entraîner des altérations microscopiques en neuropathologie et pourrait ne pas abolir totalement l'infectiosité.

Concernant la manipulation de tissus ESB, il recommande une approche prudente de manipulation avec un niveau de sécurité des locaux de niveau 2 mais avec des pratiques de niveau 3.

Le guide mentionne que la transmission par aérosol des prions a été observée expérimentalement, mais qu'il n'existe aucune preuve que cela se produise dans des conditions naturelles ou en milieu clinique. « *Il est toujours prudent d'éviter la génération d'aérosols ou de gouttelettes lors de la manipulation de tissus ou de fluides et lors de l'autopsie des animaux de laboratoire. Il est en outre fortement recommandé de porter des gants imperméables pour les activités qui offrent la possibilité d'un contact cutané avec des tissus et des fluides infectieux.* »

Les comités biosécurité de plusieurs universités des États-Unis ont réalisé des guides qui abordent la recherche sur le prion, la mission en a consulté plusieurs.

1.5.1. Université de Californie San Francisco

L'université dispose d'un bureau de l'environnement, de la santé et sécurité qui met en œuvre et supervise le programme de sécurité biologique parmi les autres programmes de sécurité.

1.5.1.1 Les compétences et différents niveaux de responsabilité sont bien identifiés dans le manuel de biosécurité de l'université

Un responsable de la biosécurité assisté d'un ou plusieurs adjoints est chargé de conseiller le comité de biosécurité institutionnel et les responsables d'équipes de recherche sur les procédures de confinement et de sécurité des laboratoires. Il relit les demandes d'autorisation et effectue des inspections périodiques pour s'assurer que les normes de laboratoire sont rigoureusement maintenues. Il élabore des plans d'urgence pour gérer les déversements et la contamination du personnel.

Le responsable de la biosécurité rend régulièrement compte de l'état du programme de sécurité biologique au CBI, en particulier si des problèmes importants ou des violations des directives du NIH ou tout accident ou maladie lié à la recherche se sont produits. Il est également responsable de la supervision de toutes les phases des opérations pour tous les laboratoires L3, et est le responsable officiel des agents sélectionnés. Les adjoints examinent et approuvent les demandes de niveau de biosécurité 1 et travaillent en étroite collaboration avec les spécialistes de l'environnement, de la santé et de la sécurité sur tous les aspects du programme de sécurité biologique.

Au sein des départements de l'université des spécialistes de l'environnement, santé et sécurité opèrent au plus près du terrain et réalisent des inspections visant la mise en œuvre des consignes de sécurité, du bon fonctionnement des équipements et vérifiant que les personnels sont à jour pour les formations requises.

Le bureau de l'environnement, de la santé et sécurité emploie un responsable de santé publique qui interagit avec le programme de santé au travail et agit en étroite collaboration avec les chercheurs pour s'assurer que la surveillance médicale. Il s'assure également que les rapports d'exposition à des matières dangereuses sont gérés et examinés, au besoin. Avec le responsable de biosécurité et le comité de biosécurité institutionnel il participe aux enquêtes sur les expositions en laboratoire et les infections acquises en laboratoire, il conseille le comité concernant les nouveaux développements dans les programmes de surveillance médicale réglementaires, et est membre d'office du comité de biosécurité institutionnel.

Enfin un service de santé au travail dispense des services généraux de santé au travail à tout le personnel de l'université. Son directeur est membre d'office du comité de biosécurité institutionnel et fournit des recommandations pour une surveillance médicale appropriée et des programmes de prévention pour le personnel utilisant des matières présentant un risque biologique.

Les directeurs des départements scientifiques sont chargés de la bonne mise en œuvre de la biosécurité au niveau des unités. Ainsi, il leur revient de fournir un soutien adéquat aux chercheurs de leur unité ou département pour s'assurer que les installations appropriées sont disponibles pour contenir et contrôler les risques biologiques, et doivent permettre aux chefs d'équipe de se conformer aux réglementations applicables et aux politiques du campus. Les directeurs sont également chargés de s'assurer que les chefs d'équipe et tout le personnel figurant sur une demande d'autorisation d'utilisation biologique ont, à la fois, des compétences techniques et une formation en matière de sécurité qui correspondent au projet proposé, et que les méthodes de conception et de surveillance du projet répondent aux normes de sécurité de l'université. Les chefs de service, ou leurs représentants désignés pour la sécurité, sont responsables de la

correction des erreurs de travail et des conditions pouvant entraîner des blessures corporelles, l'exposition ou la libération d'agents ou de matériaux présentant un risque biologique.

Le chef d'équipe est directement et principalement responsable du fonctionnement sûr de son laboratoire et de la conformité par tout le personnel de son laboratoire à toutes les politiques et procédures de biosécurité de l'UCSF. Les connaissances et le jugement du chercheur principal sont essentielles pour évaluer les risques et appliquer de manière appropriée les directives de biosécurité du campus.

1.5.1.2 Le risque prion

Le guide de biosécurité aborde en détail les mesures de sécurités applicables aux matériaux à risque biologique selon le classement de leur dangerosité que la mission ne reprendra pas ici. En particulier, pour l'évacuation des déchets prion des dispositions particulières sont prévues qui ne figurent pas dans le guide mais pour lesquels les agents doivent s'adresser au responsable de la biosécurité.

Une formation spécifique est requise pour travailler avec les prions, et un protocole d'exposition aux prions de vingt-deux pages détaille les actions à suivre en cas de contamination et identifie qui est en charge de chacune des démarches.

Les deux premières pages qui mentionnent les procédures d'urgence doivent être affichés à tous les endroits où des prions sont manipulés.

Les consignes en cas de contamination sur une peau saine prévoient un lavage sans frictionner à l'eau savonneuse et de grandes quantités d'eau chaude, un rinçage puis séchage puis l'application pendant une minute d'hydroxyde de sodium 0,1 N ou une dilution au dixième de Javel (avec port de lunette pour protéger les yeux).

En cas de blessures qui endommagent la peau les consignes sont identiques à celles appliquées en Grande-Bretagne, à savoir encourager doucement au saignement et laver à l'eau tiède savonneuse le tout sans frotter, rincer, sécher et couvrir avec un pansement étanche à l'eau.

1.5.2. L'université de Boston

Cette université impose une demande d'autorisation de manipuler des prions auprès du comité de biosécurité institutionnel¹⁶. Il impose que les expériences soient réalisées dans des laboratoires avec un niveau 2 de sécurité biologique. Le passage laboratoire de type 3 est évoqué « *pour certaines expériences impliquant les encéphalopathies spongiformes bovines* ». Dans l'élaboration de leur guide le comité de biosécurité de cette université déclare s'être inspiré des pratiques de UCSF et UCSD.

Les recommandations de décontamination font appel à des solutions 1N ou 2N d'hypochlorite de sodium

¹⁶ <https://www.bu.edu/researchsupport/compliance/ibc/resources/biosafety-manual/appendix-i-prion-researchcreutzfeldt-jacob-disease-cjd-guidelines/>