

Rapport de l'atelier de surveillance de la xénotransplantation

*Base de données sur
la prévention des infections
et archivage des échantillons*

**Notre mission est d'aider les Canadiens et les Canadiennes
à maintenir et à améliorer leur état de santé.**

Santé Canada

Cette publication a été produite par la Section des publications scientifiques et des services multimédias de la Direction de la planification de la gestion et des opérations, Santé Canada.

Pour obtenir des exemplaires supplémentaires ou pour vous abonner au Relevé des maladies transmissibles au Canada, veuillez communiquer avec le Centre des services aux membres, Association médicale canadienne, 1867 promenade Alta Vista, Ottawa (Ontario) Canada K1G 3Y6. Tél. : 888-855-2555 ou par télécopieur : (613) 236-8864.

On peut aussi avoir accès électroniquement à cette publication par Internet en utilisant un explorateur Web, à <http://hc-sc.gc.ca/hpb/lcdc>



Rapport de l'atelier de surveillance de la xénotransplantation

*Base de données sur la prévention des
infections et archivage des échantillons*

Ottawa (Ontario)
le 31 mars 2000

Ce rapport a été rédigé par la D^{re} Marian Laderoute à partir des réponses à un questionnaire écrit rempli par les participants à un Atelier de surveillance de la xénotransplantation parrainé par Santé Canada en mars 2000, et à la suite de son analyse de la littérature actuelle sur la xénotransplantation. Divers points de vue caractérisent la question de la xénotransplantation. Santé Canada a parrainé cet atelier dans l'espoir de promouvoir de la discussion, mais les points de vue exprimés par la D^{re} Laderoute et les participants ne correspondent pas nécessairement à une politique de Santé Canada.

La D^{re} Laderoute est directrice de recherches, Unité des zoonoses hématogènes, Division des pathogènes à diffusion hématogène. Toute la correspondance doit être adressée à la D^{re} Laderoute à l'adresse suivante :

D^{re} Marian Laderoute
Directrice de recherches, Unité des zoonoses hématogènes
Division des pathogènes à diffusion hématogène
Bureau des maladies infectieuses
Centre de prévention et de contrôle des maladies infectieuses
Santé Canada, Immeuble n° 6 du LLCM, pièce 1420
Pré Tunney IA 060 1E2
Ottawa (Ontario) K1A 0L2

Téléphone : (613) 941-6087
Télécopieur : (613) 952-6668
Courriel : marian_laderoute@hc-sc.gc.ca

Table des matières

APERÇU	1
▪ Pourquoi un système de surveillance amélioré pour la xénotransplantation au Canada?	
I : INTRODUCTION	3
▪ Cadre de réglementation actuel de la xénotransplantation au Canada - Rappel des faits . . .	3
▪ Déclaration des événements indésirables au Canada	3
▪ Caractéristiques potentielles d'un programme de surveillance améliorée	5
▪ Surveillance améliorée de la xénotransplantation dans d'autres pays	6
▪ Virus endémiques	6
▪ Virus endogènes	7
▪ Publication de rapports d'événements indésirables chez des receveurs de xénogreffe	10
▪ Risques de maladies infectieuses causées par des virus porcins endémiques et endogènes	11
II : RÉSULTATS DE L'ENQUÊTE ET ANALYSE	12
▪ Registre des patients et base de données sur la déclaration des événements indésirables . . .	12
▪ Définition des événements indésirables associés à la xénotransplantation	13
▪ Couplage des événements indésirables et des zoonoses	15
▪ Critères de suivi d'une zoonose potentielle	16
▪ Délais relatifs à la communication des données et à l'inscription des événements indésirables au registre	16
▪ Archivage des échantillons	17
▪ Calendrier d'archivage et d'analyse des données des receveurs	19
▪ Bilan préclinique du troupeau source	20
▪ Marqueurs indirects	21
▪ Analyse d'agents infectieux porcins inconnus	22
▪ Réactions aux éclosions de zoonose	22
III : CONCLUSIONS ET RÉSUMÉ	24
IV : RÉFÉRENCES	25
V : ANNEXES	27

APERÇU

Pourquoi un système de surveillance amélioré pour la xénotransplantation au Canada?

Le risque de voir un nouvel agent zoonotique s'immiscer dans la population humaine par l'entremise des protocoles de xénotransplantation est internationalement accepté comme un grave problème de santé publique. Même si les agents zoonotiques n'entraînent pas tous une pandémie ou une épidémie, l'infection à VIH et la « maladie de la vache folle » (variante de la maladie de Creutzfeldt-Jakob [vMCJ]) sont des prototypes récents d'infections graves et latentes que les animaux ont probablement transmises aux humains. L'infection à VIH a décimé des populations et a compromis la sécurité du sang dans le monde entier, obligeant les autorités à effectuer des tests de détection pour réduire le risque. Il n'a pas été démontré jusqu'ici que la maladie à prions ou vMCJ pouvait se transmettre par l'intermédiaire du sang ou des produits sanguins. Des précautions ont cependant été prises en fonction d'un risque théorique. Ainsi, le Royaume-Uni (R.-U.), le pays le plus touché par la vMCJ, importe maintenant du plasma pour constituer des pools de produits sanguins de pays qui n'ont pas déclaré de cas de vMCJ. Le Canada n'accepte pas de donneurs de sang qui ont passé plus de 6 mois cumulatifs au R.-U. et, plus récemment, en France. Il n'y a pas d'outil de dépistage efficace permettant de réduire le risque de transmission de la vMCJ, contrairement à l'infection à VIH. Le confinement et le contrôle des agents zoonotiques et les conséquences négatives sur les réserves ou la sécurité du sang entraînent des problèmes et des coûts en santé publique. La prévention de nouvelles épidémies, si tant est qu'elle soit possible, serait l'option privilégiée.

Les agents infectieux qui posent le plus de risques pour la xénotransplantation et la sécurité du sang sont ceux qui produisent des infections inapparentes qui demeurent latentes pendant de nombreuses années et entraînent des maladies incurables et dévastatrices. Au Canada, aucune demande relative à des essais cliniques touchant des xéno greffes n'a été reçue ou agréée jusqu'à maintenant. Le Canada a donc, conformément aux recommandations du Forum national sur la xénotransplantation tenu en novembre 1997⁽¹⁾, une occasion unique d'instaurer des mesures de précaution qui permettront d'évaluer plus attentivement et de réduire au minimum les risques de maladies infectieuses associés aux essais cliniques de xénotransplantation. Pour ce faire, il est essentiel de mettre sur pied un système de surveillance amélioré des agents infectieux associés à la xénotransplantation.

Le 31 mars 2000, la Division des pathogènes à diffusion hémotogène du Bureau des maladies infectieuses*, Laboratoire de lutte contre la maladie, Santé Canada, a tenu à Ottawa l'Atelier de surveillance de la xénotransplantation afin de recueillir les commentaires d'experts sur le système amélioré de surveillance de la xénotransplantation qui répondrait le mieux aux besoins de la population canadienne. L'atelier ne se voulait pas une conférence de concertation, mais il visait plutôt à étudier les enjeux et à donner le coup d'envoi aux délibérations ultérieures sur la surveillance de la xénotransplantation, notamment le débat public.

Vingt-six experts des maladies infectieuses et de la xénotransplantation et deux observateurs ont assisté à l'atelier (voir à l'annexe A). Au cours de la séance plénière de la matinée, on a présenté les objectifs de la mise sur pied d'une surveillance améliorée de la xénotransplantation et on a résumé les recommandations du Forum national sur la xénotransplantation de 1997. Une brève analyse de la Proposition d'une norme canadienne pour la xénotransplantation a suivi. Dans le cadre de l'étude de la surveillance internationale, on a présenté notamment un rapport des U.S. Centers for Disease Control and Prevention. La séance de la matinée s'est terminée par une vue d'ensemble de la base de données pilote des États-Unis sur la xénotransplantation. Au cours de la séance de l'après-midi, on a discuté des bases de données et de l'archivage des échantillons en s'appuyant sur des questions d'enquête spécifiques (voir à l'annexe B) que l'on avait posées aux participants.

Le présent rapport sert de fond au cadre de réglementation actuel de la xénotransplantation au Canada et s'occupe des inquiétudes principales à l'égard de la surveillance de la xénotransplantation. Les résultats de l'enquête ont été compilés, examinés et interprétés dans ce contexte, notamment une discussion de la Proposition d'une norme canadienne pour la xénotransplantation.

* Relève maintenant du Centre de prévention et de contrôle des maladies infectieuses, Direction générale de la santé de la population et de la santé publique.

I : INTRODUCTION

Cadre de réglementation actuel de la xénotransplantation au Canada - Rappel des faits

La xéno greffe n'est autorisée par la loi au Canada que si une demande d'essais cliniques, par exemple une demande relative à une drogue nouvelle de recherche ou une demande d'essai expérimental - matériels médicaux, a été agréée par le Programme des produits thérapeutiques* de Santé Canada (SC) ^(2,3). Aucun programme spécial d'accès aux xéno greffes n'est autorisé au Canada parce qu'il est difficile d'évaluer les risques et la sécurité pour les tiers ⁽³⁾. Certains xéno greffons, notamment les dispositifs de perfusion extracorporelle, peuvent s'apparenter davantage à des matériels médicaux qu'à des médicaments tandis que d'autres correspondent davantage à la définition d'un médicament (médicaments biologiques) ou d'une greffe cellulaire ^(2,3). Il faut donc tenir compte des deux réglementations lorsque l'on étudie la surveillance des essais cliniques liés à la xénotransplantation. Au Canada, les valves porcines fixées ne sont pas considérées comme des xéno greffons, car elles ne sont pas viables ⁽⁴⁾.

Déclaration des événements indésirables au Canada

Lorsque des essais cliniques sur l'innocuité et l'efficacité de nouveaux produits thérapeutiques sont menés, il faut présenter chaque année un rapport sur les effets sur la santé des patients et signaler immédiatement tout événement indésirable à SC. S'il s'agit de réactions indésirables aux médicaments *imprévues* qui sont fatales ou menacent le pronostic vital, il faut envoyer le rapport initial à SC dans les 7 jours civils qui suivent. Les rapports sur toutes les autres réactions graves et imprévues aux médicaments doivent être envoyés dans les 15 jours civils ⁽⁵⁾ qui suivent. SC doit être avisé dans les 72 heures ⁽⁶⁾ des événements indésirables graves survenus au cours d'essais cliniques de matériels médicaux. De façon générale, une fois qu'un médicament a obtenu une autorisation de mise en marché, les événements indésirables graves qu'il a entraînés peuvent être déclarés à titre facultatif alors que ceux des matériels médicaux doivent obligatoirement être déclarés dans un délai de 10 jours ⁽⁷⁾.

Il est recommandé, dans la Proposition d'une norme canadienne pour la xénotransplantation ⁽⁸⁾, que le receveur d'une xéno greffe soit inscrit dans un délai de 72 heures

* Le Programme des produits thérapeutiques s'est maintenant scindé en deux entités, soit la Direction des produits thérapeutiques et la Direction des produits biologiques et des thérapies génétiques, Direction générale des produits de santé et des aliments.

et que tous les événements indésirables graves soient déclarés immédiatement (les délais n'ont cependant pas été précisés). Même si la Proposition d'une norme n'est pas assortie d'un règlement pour l'instant, on pourrait publier un document d'orientation provisoire pour les essais cliniques liés aux xénotransplantations.

Selon la norme proposée, la surveillance des receveurs s'exercerait à vie et non pas seulement pendant la durée des essais cliniques. Il apparaît donc clair que les règlements actuels, du moins ceux qui portent sur les médicaments, ne conviennent pas à la surveillance de la xénotransplantation. Aux États-Unis (É.-U.), la Public Health Services (PHS) Guideline on Infectious Diseases Issues in Xenotransplantation⁽⁹⁾ a été révisée récemment⁽¹⁰⁾. Elle stipule désormais que les dossiers et les échantillons des animaux sources et des receveurs doivent être conservés pendant 50 ans plutôt qu'à vie⁽¹⁰⁾. La population a été invitée à commenter cette information et l'exigence relative à l'archivage des échantillons⁽¹¹⁾. La longueur du suivi recommandé aux É.-U. obligera de toute évidence le Canada à clarifier sa position sur le sujet, notamment si le protocole de xénotransplantation est classé dans la catégorie des médicaments biologiques puisque la déclaration postcommercialisation des événements indésirables dans ce cas est facultative, contrairement au domaine des matériels médicaux.

Au Canada, les programmes de surveillance améliorée n'ont rien de nouveau. Ainsi, de nouvelles lignes directrices concernant la déclaration des effets secondaires associés aux produits vaccinaux biologiques ont été adoptées en février 2000⁽¹²⁾. La Division de l'immunisation, Bureau des maladies infectieuses, collabore avec la Division des vaccins du Bureau des produits biologiques et radiopharmaceutiques. La Division de l'immunisation a toujours la responsabilité de mener la surveillance postcommercialisation et de tenir le Système de surveillance des effets secondaires associés aux vaccins (SSESAV). Non seulement la définition d'effets secondaires associés aux vaccins (ESAV) a été élargie et définie plus clairement dans la ligne directrice de février, mais un Comité consultatif d'évaluation de la causalité (CCEC) a été créé pour déterminer si un effet secondaire particulier était lié au vaccin et s'il y avait lieu d'en pousser l'étude plus loin⁽¹²⁾. Les soignants sont libres de déclarer les ESAV, sauf en Ontario, et ils le font généralement par l'intermédiaire des autorités sanitaires provinciales. Les ESAV graves signalés aux fabricants doivent toutefois être communiqués à SC dans un délai de 15 jours et les moins graves, dans un délai de 30 jours (en d'autres termes, la déclaration des effets à SC est obligatoire dans le cas des fabricants).

La politique canadienne relative aux drogues nouvelles de recherche (le règlement sur les drogues) mentionne que les événements indésirables graves à déclarer doivent être imprévus⁽⁵⁾. Mais il faudrait probablement déclarer immédiatement l'ensemble des décès et des modifications graves de l'état de santé, quelle qu'en soit la cause, dans le cas des essais cliniques de xénotransplantation. Cette option serait plus conforme au système de surveillance amélioré instauré pour les produits vaccinaux⁽¹²⁾. Il serait bon aussi que la définition des événements indésirables associés aux xénotransplantations et devant être déclarés sur-le-champ englobe les échecs de greffe, le cancer et d'autres incapacités liées à l'immunosuppression puisque ces effets seraient liés au protocole de xénotransplantation mais pas nécessairement à des maladies infectieuses. La Proposition d'une norme saisit cette définition plus large d'événement indésirable⁽⁸⁾.

La définition des événements indésirables à déclarer dans le cas des xénotransplantations revêt une très grande importance. Cette définition, à l'instar de celle de la xéno greffe, fait toujours l'objet d'un vif débat à l'échelle internationale, ce qui n'a rien d'étonnant. En ce qui concerne la xéno greffe, les PHS des É.-U. ont modifié récemment leur définition du xéno greffon afin d'y inclure non seulement les cellules, les tissus ou les organes vivants d'origine non humaine, mais aussi les liquides organiques, les cellules, les tissus ou les organes qui ont été en contact *ex vivo* avec eux⁽¹⁰⁾. Cette nouvelle définition englobe donc la peau artificielle, c'est-à-dire la peau humaine produite à partir de fibroblastes non humains, et elle s'applique à des centaines de patients traités aux É.-U. Le Conseil de l'Europe s'est demandé si les valves porcines fixées devaient être considérées comme des xéno greffons (D^r Larry Whitehouse, communication personnelle), mais il ne les a pas incluses dans sa définition⁽¹³⁾ pour le moment. Il est cependant important de déterminer le niveau de risque résiduel, s'il en est, entraîné par l'implantation de valves porcines fixées dans le cadre de l'évaluation du risque préclinique, même si aucun événement indésirable n'a été déclaré jusqu'ici⁽¹³⁾.

Caractéristiques potentielles d'un programme de surveillance améliorée

L'atelier sur la xénotransplantation n'a pas été en soi organisé pour déterminer si la surveillance améliorée était nécessaire, mais bien pour définir ce qu'elle engloberait si elle disposait des ressources nécessaires. Un programme national de surveillance améliorée de la xénotransplantation pourrait comprendre une partie des éléments suivants :

- un registre national des patients et une base de données sur la déclaration des événements indésirables;
- un site national d'archivage des échantillons doté d'une base de données pour les animaux sources et le matériel provenant de receveurs et de toute recherche portant sur les contacts étroits ou les soignants;
- des laboratoires nationaux pour l'analyse et la surveillance des échantillons (liés à la base de données d'archivage des échantillons) pour la surveillance active et les enquêtes/le suivi;
- des critères minimaux d'exclusion et d'inclusion visant à réduire les risques de maladies infectieuses pour les receveurs, leurs enfants et des tiers et à augmenter les chances d'observance à vie des règles relatives à la surveillance, à la prévention des infections personnelles et à la sexualité sans risque;
- un comité national d'experts chargé de superviser la surveillance de la xénotransplantation et les tests (distinct ou non du Comité consultatif d'experts sur la réglementation de la xénotransplantation, qui traite déjà des problèmes soulevés pendant le processus d'approbation des demandes d'essais cliniques de xénotransplantation);
- des procédures nationales de préparation aux situations d'urgence et une équipe d'intervention en cas d'épidémie en collaboration avec les autorités sanitaires provinciales, territoriales et locales;

- une équipe nationale d'inspection (avant et après l'approbation des essais cliniques ou pour certaines enquêtes);
- des définitions solides et précises de « xénogreffon », « événements indésirables graves », « autres événements indésirables » et « xénozooses soupçonnées »;
- des délais clairs pour la déclaration à SC et une clarification de la durée du suivi si un suivi « à vie » est trop long, comme on pourra l'énoncer en détail dans un document d'orientation provisoire.

Surveillance améliorée de la xénotransplantation dans d'autres pays

Aux É.-U., les PHS ont continué à concevoir une base de données nationale sur la xénotransplantation qui assurera un suivi à vie des patients ayant reçu une xénotransplantation et ils envisagent un archivage central des échantillons biologiques. Les PHS indiquent, dans leur ligne directrice révisée, que les promoteurs doivent archiver les tissus destinés à la transplantation. Les tissus sources seront conservés dans les archives pendant au moins 50 ans pour consultation. En outre, le Department of Health and Human Services des É.-U. a créé un comité consultatif sur la xénotransplantation, formé de 15 membres, qui se chargera d'informer et de consulter la population, de transmettre au Department les données les plus récentes sur la xénotransplantation et d'examiner les essais cliniques actuels et éventuels dans le domaine. La Food and Drug Administration (FDA) des É.-U. n'a pas annoncé jusqu'ici qu'elle comptait instaurer un plan de surveillance améliorée de la xénotransplantation qui irait au delà des normes régissant les essais cliniques en général. Elle a cependant suspendu tous les essais cliniques portant sur des porcs en 1997 jusqu'à ce que les promoteurs aient réglé certains problèmes, notamment les tests de détection des rétrovirus porcins endogènes (PERV) chez l'ensemble des receveurs. Les installations d'animaux sources et d'animaux utilisés en clinique doivent également être agréés. La FDA des É.-U. donne d'autres informations sur les exigences relatives aux essais cliniques liés à la xénotransplantation à l'adresse <http://www.fda.gov/cber/gdlns/clinxeno0201.pdf>.

La situation est différente au R.-U., car aucune demande d'essais cliniques n'a été agréée jusqu'à ce jour. La Xenotransplantation Interim Regulatory Authority du R.-U. (UKXIRA) a élaboré un document provisoire pour consultation, soit le rapport provisoire du groupe directeur de la surveillance des infections de la UKXIRA⁽¹⁴⁾. Trois demandes d'essais cliniques ont été présentées à la UKXIRA. L'une d'elles a été retirée, et les deux autres n'ont pas été agréées faute de données justificatives.

Virus endémiques

Il faudrait clarifier la question des tests et de l'exclusion des troupeaux de porcs porteurs de virus endémiques tels le cytomégalovirus porcine (CMVp). Selon les recommandations de l'OMS⁽¹⁵⁾, les troupeaux ne doivent pas être porteurs de certains virus, même ceux qui ne sont pas jugés zoonotiques, par exemple le CMVp, car les protocoles de xénotransplantation peuvent favoriser leur transmission (ou pathogénicité). Cette recommandation ne fait pas nécessairement obstacle à la xénotransplantation, elle

visé plutôt à souligner que les critères d'exclusion doivent porter sur les agents infectieux porcins qui ne sont pas considérés comme pouvant être transmis aux humains mais dont le risque de transmission peut être accru par la xénotransplantation⁽¹⁵⁾, (Clara Witt, communication personnelle). Il semble toutefois que tous les troupeaux sont porteurs du CMVp et d'autres virus endémiques, par exemple les herpèsvirus, le virus de l'hépatite E, les circovirus, les parvovirus et les papillomavirus, qui ne causent pas de maladies importantes, en général, chez leurs hôtes naturels⁽¹⁶⁾. On ne sait pas vraiment si ces virus endémiques peuvent traverser la barrière entre espèces en cas de xénotransplantation. De plus, si l'on utilise des organes, des tissus ou des cellules transgéniques ou si les receveurs ont subi un traitement immunosuppresseur, il est probable que le risque de transmission, dans le premier cas, ou la pathogénicité, dans le deuxième, se trouveront largement accrus.

On peut procéder à une évaluation initiale du risque en examinant des échantillons de sujets exposés au travail à du sang de porc et en clinique à des médicaments biologiques ou à des matériels médicaux prélevés sur des porcs. Mais cette évaluation ne fournit peut-être pas assez de données pour prévoir le risque si le receveur d'une xéno greffe est immunodéprimé ou si le tissu a été prélevé sur un animal transgénique. Elle risque de sous-estimer plutôt que de surestimer le risque, mais elle constituerait un bon point de départ.

L'hépatite E est un bon exemple d'un risque qui varie selon l'immunodépression de l'hôte. Même si le virus de l'hépatite E n'entraîne généralement qu'une hépatite temporaire, qui ne mène pas au portage chronique, elle cause un taux de mortalité exceptionnellement élevé (environ 20 %) au cours du troisième trimestre de la grossesse chez les humains, associé à une transmission verticale et à la mort foetale⁽¹⁷⁾. Le degré d'homologie du virus porcine de l'hépatite E avec certaines souches du virus humain de l'hépatite E isolé est de 97 % dans des pays non endémiques comme les É.-U. Il reste à déterminer si le virus porcine de l'hépatite E, qui est probablement pathogène pour les humains, entraîne un risque de mortalité accru associé à la grossesse chez les humains. Il faudrait également étudier attentivement sa pathogénicité éventuelle chez les receveurs de xéno greffe immunodéprimés.

La ligne directrice révisée des PHS des É.-U. recommande que l'on effectue une surveillance *active* du receveur, surtout dans la période qui suit immédiatement la xéno greffe⁽¹⁰⁾, chaque fois que la présence d'un agent infectieux est reconnue ou soupçonnée dans un troupeau ou un animal source. C'est donc dire que même si la ligne directrice ne cerne pas expressément les virus porcins endémiques qui doivent être exclus du troupeau, elle indique qu'il faut effectuer une évaluation « active » prospective du risque pour déterminer si un agent infectieux devrait être exclu à l'avenir.

Virus endogènes

Les virus endogènes, par exemple les PERV, et le risque inconnu qu'ils présentent ont été beaucoup plus évalués que les virus porcins endogènes. C'est peut-être en partie parce que le VIH-1, un rétrovirus, a été reconnu comme un pathogène

zoonotique lorsqu'il a franchi la barrière entre espèces, probablement celles des chimpanzés aux humains⁽¹⁸⁾. Dans ce cas, c'est le taux relativement élevé de transmission sexuelle qui a contribué le plus à la pandémie⁽¹⁸⁾.

En mars 1997, Patience et coll. ont signalé l'existence de PERV qui peuvent infecter des cellules humaines *in vitro*⁽¹⁹⁾. L'année suivante, ils ont indiqué qu'une fois que le rétrovirus endogène entré dans les cellules humaines et se répliquait, les virions enveloppés produits n'étaient plus susceptibles de subir une lyse par le sérum humain médiée par le complément, ce qui entraînait une augmentation des taux d'infectivité⁽²⁰⁾. Le sérum humain contient des anticorps d'origine naturelle dirigés contre le galactose qui réagissent avec les résidus terminaux de galactose sur les protéines virales au moment où le virus se réplique dans des cellules non-humaines. En conséquence, le taux de transmission des PERV et probablement d'autre virus enveloppés peut augmenter si l'on utilise des sources transgéniques d'organes, de cellules ou de tissus animaux pour la xénotransplantation. Denner et coll. ont indiqué en 1998 que les peptides des PERV, qui se trouvent dans un site de la protéine d'enveloppe dont l'action immunosuppressive pour les rétrovirus en général est reconnue, ont une action immunosuppressive *in vitro*²¹. L'infection à PERV chez les humains peut donc entraîner l'immunosuppression *in vivo*. Comme il est difficile d'exclure les PERV des porcs sources puisque le rétrovirus fait partie du génome porcin (est présent à titre endogène), il y a lieu de se demander si les cellules, les tissus ou les organes de porc libèrent des virions fonctionnels « infectieux ». Dans l'affirmative, quel est le risque de transmission hétérospécifique aux humains? Enfin, les PERV présenteront-ils des taux élevés de transmission interhumaine par contact sexuel, par les réserves de sang ou encore par d'autres moyens?

Bien souvent, les rétrovirus endogènes sont inactifs (à la suite de lésions génétiques), ils sont exprimés mais incapables de produire des virions infectieux ou ils sont latents jusqu'à ce qu'ils soient activés par un certain nombre d'agents, notamment les rayonnements ionisants, le stress, l'inflammation ou des stimulateurs puissants de la prolifération et/ou de l'activation (mitogènes). Les conclusions de Martin et coll. portant que les cellules endothéliales de l'aorte chez les porcs libèrent des PERV infectieux sans stimulation mitogène ou autre⁽²²⁾ et, plus récemment, celles de Van der Laan et coll.⁽²³⁾ portant que les cellules d'îlots pancréatiques de porcs en libèrent aussi à la suite d'une xénotransplantation dans des souris diabétiques non obèses et atteintes d'immuno-déficiência sévère combinée (souris NOD/SCID) montrent que le risque de transfert d'un rétrovirus aux humains à la suite d'une xénotransplantation est à tout le moins théoriquement possible. Les auteurs mentionnent aussi que la détection dans le sérum, les biopsies ou, de préférence, l'analyse de tissus prélevés dans des troupeaux de porcs à l'aide de techniques sensibles permettra de déceler les virions des PERV et qu'il sera par conséquent difficile de trouver des animaux sources d'origine porcine qui n'excréteront pas de virions de PERV. D'autres chercheurs ont effectivement établi que la production de PERV dans les globules sanguins varie d'une souche porcine à l'autre⁽²⁴⁾ et que la charge d'ARN messager viral dans les troupeaux exempts d'organismes pathogènes spécifiques (EPS) varie selon les sources de tissus (le plus grand producteur étant le rein, suivi du foie, du poumon et du cœur)⁽²⁵⁾. Il importe particulièrement de

noter que les troupeaux EPS présentaient des taux d'ARN messager du PERV équivalents ou plus élevés que les troupeaux habituels. On peut donc dire, que conformément aux prévisions, l'utilisation de troupeaux EPS ne réduit pas le risque de transmission de PERV aux humains.

La découverte de la présence d'un agent infectieux dans la totalité ou la majorité des animaux sources est nécessaire mais non suffisante pour indiquer le niveau de risque a) de transmission aux humains, b) de provocation de maladies ou c) d'une épidémie. En conséquence, si l'on peut dire que les protocoles de xénotransplantation entraînent un risque apparent de transmission de PERV aux humains, à quelle fréquence ce risque se matérialise-t-il? Un certain nombre de chercheurs se sont penchés sur la question⁽²⁶⁻³¹⁾. On n'a pas recueilli jusqu'ici de preuves claires que les PERV ont infecté des humains ou se sont répliqués dans des hôtes humains *in vivo*⁽²⁶⁻³¹⁾. Cependant, 23 % des receveurs suivis dans les modèles de perfusion splénique avaient des cellules porcines en circulation (appelées microchimérismes) contenant des PERV latents⁽²⁶⁾. On ne connaît pas exactement les conséquences à long terme de cette observation bien que certaines xénotreffes remontent à 8 ans⁽²⁶⁾. Dans une autre étude portant sur dix patients auxquels on avait implanté des cellules d'îlots pancréatiques de fœtus de porc, cinq avaient un microchimérisme à 6 mois ou plus⁽³¹⁾. On n'a décelé des anticorps contre le PERV dans aucune des deux études, ce qui indique qu'il n'y a pas eu de libération de particules infectieuses; il est toutefois possible, bien que non usuel, qu'une infection ne s'accompagne pas d'une production d'anticorps, par exemple au début de l'infection, pendant la période de latence sérologique. Il n'y a cependant pas de preuves claires que les PERV se répliquent dans les hôtes humains ou les infectent même lorsqu'il y a un risque de microchimérisme^(26,31). Cette interprétation est toutefois sujette à caution, car on n'a pas utilisé ni évalué de sources transgéniques de xénotrefe. L'observation d'une infection à PERV active dans un modèle murin⁽²³⁾ soulève toutefois de vives inquiétudes au sujet de la possibilité d'une infection hétérosécifique chez les humains.

Si l'on menait des tests prospectifs sur des échantillons de tissus appropriés, par exemple des cellules rénales ou épithéliales, plutôt que des tests rétrospectifs sur des échantillons de sérum ou de sang, on pourrait obtenir des résultats positifs dans certaines conditions, notamment chez des receveurs humains de xénotrefe immuno-déprimés ou des receveurs de xénotrefe transgénique. On a signalé récemment que 68 % (17 sur 25) des souris NOD/SCID auxquelles on avait transplanté des cellules d'îlots pancréatiques de porc avaient un microchimérisme et que les huit que l'on avait pu évaluer présentaient des signes d'infection à PERV, mais seulement dans les tissus où l'avait démontré l'existence d'un microchimérisme⁽²³⁾. Les auteurs ont indiqué que la xénotransplantation d'îlots de porc à des humains pouvait entraîner une exposition de longue durée à des rétrovirus endogènes capables de se répliquer. Mais comme ils n'avaient pas exclu la possibilité d'un pseudotypage des PERV par des rétrovirus endogènes de souris (ce qui a pu accroître le risque de transmission), on ne sait pas actuellement si ce risque de transmission accru chez les souris peut être extrapolé aux humains.

Publication de rapports d'événements indésirables chez des receveurs de xéno greffe

Le seul rapport d'autopsie qui ait été publié à la suite du décès d'un receveur de xéno greffe a été rédigé 7,5 mois après l'implantation de neurones foetaux de porc chez un patient atteint de la maladie de Parkinson aux É.-U.⁽³²⁾. Le décès a été attribué à une embolie pulmonaire jugée non liée au protocole de xénotransplantation⁽³²⁾. Mais comme le patient était immunodéprimé en raison de la prise de cyclosporine, le risque d'infection associé était plus élevé. Des agents infectieux peuvent en outre être associés à l'embolie pulmonaire. Rien n'indiquait qu'un suivi avait été fait pour déceler des agents infectieux porcins, de sorte que l'on ignore si des agents infectieux porcins endogènes ou endémiques ont joué un rôle dans le décès du patient. Une analyse complète des pièces d'autopsie visant à déceler des agents infectieux endogènes et endémiques de porcs (et des tests sur les animaux sources) aurait vraiment permis de trancher la question générale de la transmission de ces agents viraux connus aux humains. On pourrait soutenir que les décès survenus au cours d'essais cliniques liés à des xénotransplantations devraient être déclarés immédiatement et que les pièces d'autopsie devraient faire l'objet d'une enquête complète de la part des autorités sanitaires, peu importe la cause perçue du décès.

On a effectué un suivi pendant 4,5 ans ou plus chez dix patients suédois qui avaient reçu un traitement immunosuppresseur et auxquels on avait greffé des cellules d'ilôts pancréatiques prélevées chez des foetus porcins⁽³¹⁾. Au cours de cette période, deux patients sont morts à la suite d'un infarctus du myocarde et un patient a rejeté une allogreffe rénale (à 2,5, 5 et 6 ans respectivement). Aucune maladie lymphoproliférative ou neurologique n'a été déclarée. On ignore si ces événements indésirables graves étaient associés à une xénozoönose. Même si les tests sanguins n'ont révélé aucun signe d'infection à PERV⁽³¹⁾, le rapport n'a pas indiqué si les échantillons d'autopsie ou de biopsie avaient été analysés, en particulier pour déceler des virus porcins endémiques et endogènes. Fait important à noter : le sérum de la majorité des porcs testés dans le cadre de la même étude (9 sur 12, 75 %) contenait effectivement l'ARN du PERV corrélé avec une activité démontrable de la transcriptase inverse (RTase)⁽³¹⁾. Comme les échantillons de sérum des patients ne comportaient pas d'ARN du PERV ni de signe d'activité de la transcriptase inverse à la différence des échantillons de la plupart des porcs, on peut raisonnablement croire que les patients, dont la moitié présentaient un microchimérisme, ne produisaient pas de PERV capables de se répliquer. Par contre, cette observation sur les porcs révèle qu'il existera probablement des risques de maladies infectieuses liées aux PERV peu importe le type d'organes, de tissus ou de cellules utilisés pour les xéno greffes. Cette situation peut poser un problème si certaines personnes expriment déjà des rétrovirus endogènes ou contractent des rétrovirus exogènes pouvant contribuer au pseudotypage des PERV. Il y a là de quoi s'inquiéter, car des PERV capables de se répliquer pourraient alors voir le jour. Il faut prendre des mesures de précaution supplémentaires puisque les rétrovirus endogènes pourraient contaminer l'ensemble ou la majorité des xéno greffons. Si ces virus endogènes pouvaient être génétiquement ou fonctionnellement éliminés du génome

porcin (ce que bon nombre de scientifiques jugent impossible), le risque de maladies infectieuses associées à la xénotransplantation s'en trouverait grandement réduit.

Risques de maladies infectieuses causées par des virus porcins endémiques et endogènes

Bref, on en sait bien peu sur les risques d'infection des populations humaines par des virus endogènes et endémiques porcins, même si des données indiquent que l'hépatite E porcine peut être transmissible aux humains. Il faudra exercer une surveillance active des agents infectieux courants chez les porcs à la suite d'une xénotransplantation pour évaluer les risques de transmission de virus endogènes et endémiques. La période qui suit immédiatement la xénotransplantation (avant que les anticorps n'éliminent le virus du sang du patient), qui peut s'étendre sur 2 à 8 semaines, serait la plus indiquée pour examiner la situation, par exemple au moyen d'une amplification par la polymérase (PCR). Un examen attentif des virus qui se répliquent peu après la transplantation permettrait à tout le moins de déterminer le risque d'infectivité des divers agents infectieux porcins pour les humains. On pourrait ainsi connaître les virus qu'il faut surveiller de près à long terme pour combattre et freiner une épidémie éventuelle.

Il est reconnu que l'absence de données ne signifie pas qu'il y a absence de risque. La découverte d'un transfert hétérospécifique de PERV⁽²³⁾ à des souris immunodéprimées joint à un microchimérisme amène à se demander si des humains immunodéprimés recevant des organes, des tissus ou des cellules transgéniques ou encore si des receveurs ayant un microchimérisme produiront aussi des PERV capables de se répliquer. Comme on l'analysera ultérieurement, tous les événements indésirables pourraient être liés à une infection par un agent zoonotique. Sans détection active, il sera difficile de déterminer si le symptôme est lié à une xénozoonose éventuelle ou non. Il faudrait suivre de près les premiers essais⁽¹⁾. La ligne directrice révisée des PHS des É.-U. indique désormais que, après une xénotransplantation, il faut surveiller activement tous les agents infectieux porcins dont la présence dans le troupeau source est reconnue ou soupçonnée, y compris les virus porcins endogènes et endémiques.

II : RÉSULTATS DE L'ENQUÊTE ET ANALYSE

L'atelier visait principalement à recueillir les idées des participants sur certaines questions et non à modeler les opinions ou à établir un consensus. La plupart des questions ont soulevé une foule de points de vue et de commentaires. Les réponses sont éclairantes, car elles aident à déceler les problèmes et à cerner les questions à aborder dans les délibérations à venir et probablement dans les documents d'orientation.

Registre des patients et base de données sur la déclaration des événements indésirables

Les participants ont souligné que le plan de la base de données sur la surveillance de la xénotransplantation variera en grande partie selon les objectifs visés. Fait étonnant, certains participants considéraient les mesures de surveillance améliorée de SC comme un projet de recherche sur l'évaluation de la sécurité. Mais étant donné que la xénotransplantation comporte un risque toujours non défini pour la population qui pourrait prendre la forme d'une nouvelle épidémie, il est essentiel d'évaluer et de limiter ce risque au niveau des essais cliniques si l'on veut protéger la santé de la population canadienne. Seuls des essais cliniques bien conçus et étroitement surveillés permettraient d'évaluer adéquatement le risque de la xénotransplantation pour la santé et la sécurité de la population⁽¹⁾. Il faudrait en outre, avant de leur donner le feu vert, consulter la population, charger un organisme national de les surveiller et prendre des mesures de précaution pour évaluer et limiter le risque de maladies infectieuses pour les tiers⁽¹⁾.

On pourrait envisager que le registre initial, qui ne compterait qu'un petit nombre de receveurs, soit simplement tenu sur papier. Mais une fois que plusieurs essais seront approuvés et en cours, il faudra élaborer une version électronique susceptible de relier divers ensembles de données. La discussion sur le registre au cours de l'atelier a permis de définir deux types fonctionnels d'éléments de données, soit ceux du registre national et ceux avec lesquels on peut établir des liens grâce à des identificateurs communs à d'autres bases de données, notamment une base de données d'archivage ou les dossiers médicaux du receveur au centre local. La plupart des participants étaient d'avis qu'il ne serait pas nécessaire d'inscrire tous les antécédents médicaux ou le dossier du patient dans le registre national puisque l'on pourrait obtenir les renseignements nécessaires au moment de l'inspection, de l'enquête ou du couplage des données. Ils estimaient que si la base de données du registre devenait trop détaillée

ou trop complexe, on risquerait de ne plus pouvoir réagir aux premiers signes de la transmission d'un agent infectieux et que les coûts et le risque de surcharge d'information seraient plus grands.

La plupart des répondants ont indiqué qu'il faudrait avoir accès aux données démographiques des animaux et des tissus sources, mais que ces données ne devraient pas nécessairement figurer dans le registre national. Ils estimaient cependant à l'unanimité que les données démographiques sur les receveurs (âge, sexe, centre hospitalier où la xéno greffe a été faite, type de xéno greffe) *devaient* y figurer. Selon la Proposition d'une norme canadienne pour la xéno transplantation, les éléments de données suivants doivent être inclus : le numéro d'identification du programme de xéno transplantation, l'identification codée du receveur, la race, le sexe, l'âge et la date de naissance, le numéro d'assurance sociale, le groupe sanguin, les organes reçus et la cause de l'échec de la greffe, la date et l'heure de la transplantation, le numéro d'identification de l'animal source et toutes les données portant sur l'ascendance et l'élevage des animaux sources ainsi que sur les tests relatifs aux pathogènes transmissibles (ou potentiellement transmissibles)⁽⁸⁾. La norme proposée recommande certes que les données sur les animaux sources figurent dans le registre national, mais bon nombre de participants estimaient que la capacité de coupler des données ou d'y avoir accès était suffisante. À leur avis, d'autres éléments de données, notamment le traitement immunosuppresseur reçu par le patient, le type d'immunosuppression, les antécédents du patient en matière de transfusion ou de transplantation et ses antécédents de maladies infectieuses ou de cancer, ne revêtaient pas assez d'importance à l'heure actuelle pour figurer dans le registre national.

Tous les répondants ont souligné qu'il était primordial d'inscrire les événements indésirables graves dans le registre, et la majorité estimaient qu'il fallait également y consigner les autres événements indésirables. Il faudra toutefois éclaircir et définir davantage les types d'événements indésirables qui devront figurer dans le registre des patients (voir également ci-dessous).

Bref, les participants ont souscrit aux éléments de données minimaux qui doivent être inscrits dans le registre national selon la Proposition d'une norme canadienne pour la xéno transplantation⁽⁸⁾, sauf en ce qui concerne les données démographiques sur la source du xéno greffon.

Définition des événements indésirables associés à la xéno transplantation

La définition d'événement indésirable a soulevé beaucoup de débats. Celle de la Proposition d'une norme canadienne se lit ainsi : « un résultat indésirable, direct ou indirect, de l'allogreffe (e. g. : infection, transmission de maladie, défaillance de la greffe) »⁽⁸⁾. On suppose que le décès serait considéré comme « indésirable » même s'il n'apparaît pas sur la liste. On a proposé une autre définition au cours de l'enquête (voir le questionnaire d'enquête à l'annexe B) : « toute modification notable de l'état de santé ou du bien-être du receveur, réversible ou non, exigeant une intervention ou

des soins médicaux, notamment le décès, l'invalidité, la transmission d'une maladie, l'infection ou l'hospitalisation, liée directement ou indirectement au protocole de xénotransplantation ». Bon nombre de participants ont choisi l'une des deux définitions semblables fournies, mais ils ont inscrit des mises en garde ou des ajouts, notamment sur l'échec de la transplantation ou le diagnostic de cancer.

On a proposé au cours de la discussion d'adopter la définition convenue par l'OMS ou par d'autres instances internationales. L'OMS n'a pas arrêté de définition d'« événement indésirable », mais des débats internationaux sont en cours. Certains participants préféraient que les promoteurs/cliniciens définissent eux-mêmes les éléments à déclarer ou décident si l'événement indésirable est lié à la xénotransplantation avant de le déclarer. Dans le cas de la surveillance améliorée des vaccins, un groupe d'experts distinct examine les effets secondaires déclarés et décide s'ils sont liés à la vaccination⁽¹²⁾. Si un effet secondaire est rare ou inhabituel, la décision peut être très difficile. Certains participants ont indiqué qu'il faudrait déclarer tous les événements indésirables graves, les surveiller de près et/ou mener une enquête à leur sujet étant donné que la xénotransplantation est nouvelle et qu'il peut être ardu de déterminer si un événement indésirable a trait à l'intervention et/ou à la xénozoönose. Certains ont dit qu'il faudrait déclarer tous les résultats de tests de laboratoire anormaux ou tout événement indésirable persistant, par exemple la fièvre, tandis que d'autres ont affirmé qu'il faudrait prendre garde de surcharger le système. La difficulté consiste à distinguer les véritables événements indésirables des données accessoires qui les entourent. Certains participants ont ajouté que toute maladie inexplicquée observée soudainement par des membres de la famille devrait aussi être déclarée.

Les lignes directrices de l'UKXIRA ont défini un événement fâcheux comme une xénozoönose soupçonnée et/ou une xénozoönose confirmée⁽¹⁴⁾. L'organisme a modifié récemment la mention « et/ou », car les xénozoönoses ne peuvent pas toutes être confirmées avant la tenue d'une enquête. Il peut toutefois s'avérer improductif de restreindre la déclaration des événements indésirables aux xénozoönoses puisqu'il n'y a pas de critères cliniques uniformes permettant de soupçonner une xénozoönose, surtout dans le cas de virus inconnus ou latents. Il n'y a pas de moyen qui permette de distinguer facilement une infection humaine d'une infection zoonotique d'après le tableau clinique. Dans ce contexte, on aboutirait soit à la déclaration de tous les événements indésirables ou, plus probablement, à la déclaration d'une poignée d'entre eux. La définition d'événement indésirable du R.-U. dans sa formulation actuelle semble inadéquate, car même les décès ne seraient pas déclarés. Il est certain que l'analyse des pièces d'autopsies pratiquées sur des receveurs de xéno greffe fournirait des sources d'information essentielles sur la transmission des virus porcins endogènes et endémiques aux humains et jouerait un rôle clé dans l'évaluation des risques de maladies infectieuses liés à la xénotransplantation. L'UKXIRA devrait à tout le moins réexaminer sa décision au sujet de la déclaration des décès et de l'examen des agents infectieux dans les pièces d'autopsie, peu importe la cause du décès.

La Proposition d'une norme canadienne pour la xénotransplantation indique que les événements indésirables suivants doivent être déclarés immédiatement (la déclaration est obligatoire et immédiate) : xénozoönose potentielle ou confirmée chez le receveur

ou tests positifs pour un ou des agents infectieux chez l'animal source; manifestation chez un receveur d'une maladie qui doit être obligatoirement déclarée : infection à VIH, hépatite B, hépatite C, tuberculose ou toute autre infection y compris les zoonoses; apparition d'un nouveau cancer chez le receveur (sauf les carcinomes basocellulaire et spinocellulaire de la peau); dysfonctionnement d'emblée du xéno greffon transplanté; et décès du receveur⁽⁸⁾. La définition des événements indésirables et de la déclaration obligatoire dans le cas des xénotransplantations diffère grandement de celle de la réaction indésirable aux drogues nouvelles de recherche puisque, dans ce dernier cas, les événements indésirables graves à déclarer dans le cadre des essais cliniques doivent être « imprévus » et il doit exister « au moins une possibilité raisonnable qu'un lien de causalité entre ce produit et un effet indésirable puisse être établi »⁽⁵⁾. Pour ce qui est des matériels médicaux, un événement indésirable doit être déclaré s'il a trait à une défaillance du matériel ou à son inefficacité *et* s'il a entraîné le décès ou une détérioration grave de l'état de santé du patient⁽⁷⁾. Il faut manifestement mieux définir et clarifier, dans un document d'orientation, les exigences relatives à la portée, à la déclaration et à l'analyse des événements indésirables dans les protocoles de xénotransplantation avant de songer à mener des essais cliniques de xénotransplantation au Canada. Comme la plupart des troupeaux de porcs obtiendront probablement des résultats positifs pour les PERV (sang et/ou tissus) et pour d'autres virus endémiques, notamment le CMVp, il faudra décider si la présence de ces virus (dans l'animal ou le troupeau source) est un motif pour exclure la xénotransplantation.

Couplage des événements indésirables et des zoonoses

La majorité des participants à l'atelier estimaient que les décès, le cancer, l'auto-immunité et les incapacités telles que la paralysie, le rejet du greffon, les éruptions et les fièvres peuvent être attribués à un agent infectieux (humain ou porcin). L'idée que les virus puissent être incriminés dans un certain nombre d'affections auto-immunes et maladies inflammatoires chroniques n'est pas nouvelle. Plusieurs rétrovirus humains endogènes et exogènes ont été mis en cause, y compris un nouveau virus exogène appelé rétrovirus humain cinq (HRV-5), qui est lié à l'arthrite et a été décrit récemment par Weiss et coll.⁽¹⁸⁾. On a déjà craint que les PERV puissent être pseudo-typés par d'autres rétrovirus humains présents dans l'hôte et qu'ils puissent alors se répliquer. Les rétrovirus peuvent en outre être oncogènes, c'est-à-dire provoquer le cancer. On peut devoir exclure des patients atteints de maladies auto-immunes, de troubles inflammatoires chroniques ou de cancer ou les surveiller plus étroitement, s'ils ont été inclus dans des essais cliniques liés à la xénotransplantation, jusqu'à ce que les PERV puissent être éliminés des troupeaux sources et des xéno greffes.

Parmi les autres événements indésirables susceptibles d'être liés à une zoonose figurent toute une gamme de maladies et de syndromes (chez les receveurs et leurs proches) et peut-être tout résultat de laboratoire anormal, en particulier si un test de détection d'agents infectieux porcins (spécifiques ou non spécifiques) a donné un résultat positif. Un participant a même affirmé que l'on pourrait établir un lien causal entre tous les événements indésirables et un agent infectieux. Selon la Proposition

d'une norme canadienne, des procédures normalisées de fonctionnement (PNF) doivent être créées pour les enquêtes et le suivi locaux lorsque des infections et des maladies transmissibles sont soupçonnées⁽⁸⁾. Les procédés de déclaration et d'enquête ne manqueront pas d'être incohérents si les équipes locales de xénotransplantation sont libres d'élaborer leurs propres normes. Il se peut qu'une équipe nationale d'enquête soit plus apte à étudier la situation et à déterminer objectivement si un agent infectieux porcine est lié à l'événement indésirable ou susceptible de l'être. Un organisme national pourrait analyser les données regroupées, ce qui pourrait améliorer la cohérence et permettre de déceler plus rapidement les tendances. On s'attend toutefois à ce qu'il soit difficile, en général, de confirmer si un événement indésirable est lié à une xénozoönose inconnue. Il semble donc peu indiqué de restreindre la définition d'un événement indésirable à une xénozoönose.

Critères de suivi d'une zoonose potentielle

Tous les événements indésirables inexplicables devraient essentiellement faire l'objet d'un suivi visant à détecter un agent zoonotique potentiel. Certains participants ont affirmé que le suivi devrait être réservé aux cas où certaines données (recueillies, par exemple, par des méthodes de dépistage) militent en faveur d'une infection zoonotique. Plusieurs participants étaient d'avis que la décision devrait appartenir au promoteur ou à l'équipe locale d'experts cliniques. Bon nombre de participants ont indiqué qu'il faudrait rechercher la présence d'agents infectieux porcins dans les pièces d'autopsie en cas de décès, conformément aux recommandations du Forum national⁽¹⁾. Certains ont indiqué qu'un diagnostic de cancer ou d'auto-immunité pourrait aussi justifier une telle enquête. Le débat sur les critères pour les enquêtes de contrôle n'est donc pas terminé. Il faudra aussi tenter d'harmoniser ces critères à l'échelle internationale⁽¹⁾. Quels que soient les critères élaborés, ils devront précéder les essais cliniques et prendre la forme d'une politique provisoire de SC sur la tenue des essais cliniques de xénotransplantation. S'il peut être assez simple d'enquêter sur des agents connus ayant des séquences bien définies, la recherche d'agents infectieux porcins inconnus peut s'avérer plus difficile.

Délais relatifs à la communication des données et à l'inscription des événements indésirables au registre

Tous s'entendaient pour dire que les événements indésirables graves devaient être déclarés immédiatement, conformément à la Proposition d'une norme canadienne pour la xénotransplantation⁽⁸⁾, mais la définition du terme « immédiatement » était assez nébuleuse. La plupart des participants au débat ouvert estimaient qu'il s'agissait d'un délai de 24 heures, mais les réponses à l'enquête allaient d'un délai de 12 heures pour la réception d'une confirmation à 72 heures. Pour ce qui est de la déclaration dans les 24 heures, un participant s'est demandé si un représentant de SC serait en poste le week-end. Si les critères du suivi et la surveillance améliorée obligatoire sont éclaircis dans le document d'orientation provisoire (notamment les échantillons

requis, les centres de réception des échantillons, la nécessité d'une enquête de contrôle), un délai maximal de 72 heures serait peut-être acceptable. Là encore, quelles que soient les exigences minimales retenues, elles doivent précéder l'autorisation des essais cliniques au Canada.

Les réponses des participants variaient énormément en ce qui concerne les événements indésirables graves et moins graves. Bon nombre de participants estimaient qu'il fallait les déclarer tous les trimestres plutôt qu'une fois par année dans le cas des essais cliniques de transplantation parce que certains événements de moindre gravité, comme un syndrome grippal, peuvent signaler très tôt l'existence d'une épidémie de xénozoönose s'ils sont regroupés et analysés.

Archivage des échantillons

Bon nombre de participants préféraient le terme « archivage » du questionnaire d'enquête au terme « surveillance » parce qu'ils estimaient qu'un organisme national n'avait pas à procéder à des tests courants ou actifs. Ils étaient nombreux à mentionner aussi qu'il n'était pas nécessaire d'archiver les données à la fois dans un centre national et un centre local. Ils jugeaient préférable que les échantillons soient fournis en cas d'enquête ou que des doubles des échantillons soient conservés à l'échelle locale pour un organisme national. Cette dernière option est conforme à la nouvelle ligne directrice des PHS des É.-U., mais non aux recommandations du Forum national sur la xénotransplantation⁽¹⁾, qui privilégie grandement la conservation d'échantillons en double dans des archives locales et nationales. La Proposition d'une norme canadienne pour la xénotransplantation⁽⁸⁾ mentionne ce qui suit : « Jusqu'à ce que le registre central soit établi, il faudra prendre les mesures nécessaires afin de conserver à long terme tout échantillon devant servir aux programmes de santé publique (sérum, plasma, leucocytes et tissus du receveur, si possible) et pour élaborer un système de documentation efficace qui facilitera la consultation et les recoupements nécessaires entre les données contenues dans les dossiers médicaux des receveurs et ceux des animaux sources. »

Pour ce qui est des échantillons de receveur, la majorité des participants ont convenu qu'il faudrait archiver des échantillons de départ, des échantillons courants et des échantillons d'enquête pour tous les patients et entreposer du sérum (5 aliquots de 0,5 mL pour les centres locaux/nationaux), du plasma (même quantité que pour le sérum) et des cellules mononucléées de sang périphérique (PBMC, au moins 3 aliquots de 1 million de cellules pour les enquêteurs locaux et nationaux). D'autres ont proposé que l'on archive aussi des pièces de biopsie et d'autopsie, si possible, et des échantillons d'ARN et d'ADN; peu de participants jugeaient utile de conserver des échantillons d'urine. Certains ne voyaient pas l'utilité de tenir des archives nationales, tandis que d'autres étaient d'avis contraire et estimaient que SC devrait se charger de l'ensemble des tests. Il faudrait évaluer la capacité de recueillir du sang et veiller à ce que les volumes recueillis soient pratiques. Un participant a proposé, en fait, que le promoteur détermine lui-même la quantité d'échantillons à prélever. Il a également été proposé que des comités d'experts déterminent les tests à effectuer selon le

contexte puisque le volume total des échantillons serait limité et que certains échantillons peuvent être essentiels à l'enquête. Comme les tests ne seraient pas tous disponibles sous forme validée et uniformisée, il vaudrait peut-être mieux qu'un comité d'approbation indépendant soit chargé de déterminer les tests qui peuvent être faits et les échantillons à analyser.

Les Lignes directrices de l'UKXIRA prônent une surveillance à vie, à l'instar de la Proposition d'une norme canadienne. Si l'on recommande d'entreposer des échantillons pendant au moins 50 ans, conformément à la nouvelle ligne directrice des PHS des É.-U.⁽¹⁰⁾, il y a lieu de se demander s'il faudrait fixer des restrictions quant à l'âge (en favorisant les patients plus âgés) des receveurs de xéno greffe ou si les essais initiaux devraient être limités aux patients en phase terminale. Il faudrait aussi prévoir un mécanisme permettant de disposer des échantillons pendant cette période, probablement l'entreposage dans un centre national d'archivage.

Bon nombre de répondants ont indiqué que les échantillons d'animaux sources devraient être archivés au centre local ou par le promoteur et que l'accès à ces données lors d'une enquête devrait être régi par SC. Si l'animal est sacrifié au moment du prélèvement des cellules, des tissus ou des organes, conformément à la recommandation du Forum national⁽¹⁾, on pourrait aussi archiver certains tissus comme les ganglions lymphatiques, la rate, la moelle osseuse et tout autre tissu approprié pour le type de xéno greffon utilisé en plus du plasma (5 aliquots de 0,5 mL), du sérum (5 aliquots de 0,5 mL) et des PBMC (5 aliquots de 10 millions de cellules). Comme on craint que l'hépatite E soit endémique dans les troupeaux et transmissible aux humains, certains participants ont proposé que l'on prélève des échantillons de matières fécales des animaux sources en vue de les soumettre à des tests par PCR, qui constitue la méthode la plus sensible et la plus sûre de détection précoce⁽¹⁷⁾.

Les répondants ont mentionné qu'il faudrait prélever des échantillons de départ et des échantillons d'enquête dans le cas des contacts étroits (comme pour les receveurs), mais seul un petit nombre d'entre eux estimaient qu'il faudrait recueillir des échantillons annuels courants. La plupart estimaient qu'il serait suffisant d'entreposer le matériel des contacts étroits dans un centre local.

Les participants ont proposé que l'archivage des échantillons des travailleurs de la santé s'apparente à celui des contacts étroits et que des échantillons supplémentaires soient recueillis en cas de piqûre accidentelle avec des aiguilles. Un grand nombre d'entre eux ont mentionné que les travailleurs les plus à risque devraient faire l'objet d'une surveillance accrue (archivage et/ou tests). Selon les lignes directrices du R.-U., il faudrait archiver et analyser les échantillons des travailleurs de la santé, exception faite des échantillons sanguins de départ, seulement s'ils sont largement exposés aux liquides organiques des receveurs de xéno greffe (p. ex., les chirurgiens) ou en cas d'événement fâcheux⁽¹⁴⁾.

Calendrier d'archivage et d'analyse des données des receveurs

La Proposition d'une norme canadienne pour la xénotransplantation⁽⁸⁾ souligne certes la nécessité de recueillir un échantillon de départ chez tous les receveurs et des échantillons d'enquête en cas d'événement indésirable, mais elle ne présente pas un calendrier détaillé minimal d'archivage ou de tests pour les échantillons des receveurs. On a donné aux répondants la possibilité de choisir entre deux types de calendrier de prélèvement ou d'élaborer leur propre calendrier (voir le questionnaire d'enquête à l'annexe B). Dans les essais initiaux, le calendrier est censé être plus serré afin de permettre de recueillir des données rudimentaires indiquant quels sont les échantillons les plus informatifs. Une fois que l'évaluation des risques inhérents à cette phase est terminée, on n'a pas nécessairement à prélever des échantillons aussi souvent au cours de la période qui suit immédiatement la xénogreffe. Bon nombre de participants prônaient un prélèvement hebdomadaire ou bihebdomadaire pendant les 3 premiers mois, un prélèvement mensuel pendant les 3 à 9 mois suivants, et enfin un prélèvement annuel. La plupart des participants jugeaient essentiel de recueillir un échantillon à 1 mois et au moins deux fois au cours de la première année.

Selon les Lignes directrices du R.-U., qui se fondent sur la ligne directrice des PHS des É.-U.⁽⁹⁾ de 1996, seuls les échantillons de départ, les échantillons à 1 mois, les échantillons à 6 mois et les échantillons annuels doivent être archivés. Le document recommande par contre que des échantillons à 0, 1-2 jours, 2, 4, et 6 semaines, 3 et 6 mois, puis une fois l'an par la suite soient analysés. Il ne précise pas pourquoi certains échantillons doivent être analysés mais non archivés. La ligne directrice des PHS des É.-U. révisée en 2000⁽¹⁰⁾ (section 4.1.2) indique maintenant qu'il faut archiver deux échantillons de départ distincts (recueillis, de préférence, à un mois d'intervalle, dont un échantillon a été recueilli au jour 0) et que les échantillons prélevés au cours de la période qui suit immédiatement la transplantation doivent être archivés avec les échantillons recueillis au cours de la période de 1 à 6 mois suivant la transplantation, à 12 mois, à 24 mois, à 60 mois, à 120 mois, etc.

Pour ce qui est des tests, la ligne directrice des PHS révisée recommande que l'on soumette souvent le receveur à un dépistage actif au cours de la période qui suit immédiatement la transplantation si la présence d'agents infectieux xénogènes est reconnue ou soupçonnée. On cite comme exemples les échantillons recueillis à 2, 4 et 6 semaines et on propose que le dépistage porte notamment sur les rétrovirus endogènes, le herpèsvirus et le papillomavirus. Comme tous les troupeaux de porcs sont porteurs de PERV et que bon nombre d'entre eux, si ce n'est la totalité, sont porteurs de virus endémiques d'un type quelconque⁽¹⁷⁾, les normes (des É.-U., du R.-U. et probablement du Canada) devront peut-être prévoir que des tests actifs de détection d'agents infectieux porcins endogènes et endémiques devront être faits au moins au départ, à 2 semaines, à 4 semaines et à 6 semaines, à 6 mois, une fois l'an (pendant 2 ans), puis tous les 5 ans. C'est là une interprétation possible de la ligne directrice des É.-U. révisée.

Le terme « surveillance » utilisé dans notre questionnaire d'enquête englobait les tests et l'archivage. Bon nombre de participants estimaient toutefois qu'il faudrait

remplacer « surveillance » par « archivage », ce qui éliminerait la nécessité d'effectuer des tests actifs. Mais comme on l'a indiqué plus haut, la ligne directrice des É.-U. (à laquelle se reporte l'UKXIRA⁽¹⁴⁾) stipule très clairement qu'il est maintenant recommandé d'intégrer des tests actifs et l'archivage à la surveillance. Cette procédure est particulièrement importante au cours de la période qui suit immédiatement la xénogreffe, surtout parce que la plupart des troupeaux sont probablement porteurs de virus endogènes^(19-25,31) et endémiques^(16,17) connus.

La majorité des participants étaient d'avis que, dans le cas des contacts étroits, il fallait archiver les échantillons de départ et les échantillons annuels et archiver les données des enquêtes sur les événements indésirables. Certains croyaient toutefois que l'on pourrait envisager un échantillonnage trimestriel ou mensuel pendant les 3 premiers mois, peut-être pour procéder à l'évaluation initiale du risque de transmission sexuelle ou familiale. Les lignes directrices du R.-U. prévoient l'archivage d'un échantillon de départ et d'un échantillon à 1 an ainsi que des tests et un archivage complémentaire des données d'enquête seulement en cas d'événement indésirable potentiellement lié à une xénozoönose⁽¹⁴⁾. La ligne directrice des PHS des É.-U. prévoit pour sa part le prélèvement d'un échantillon de départ dans le cas des travailleurs de la santé ainsi que des tests et un archivage complémentaire seulement en cas d'événement indésirable⁽¹⁰⁾. La ligne directrice des PHS des É.-U. ne fait pas mention des contacts étroits.

Bilan préclinique du troupeau source

La plupart des participants préféraient le terme « source » au terme « donneur » pour désigner le matériel animal ou les animaux destinés à la xénogreffe. Bon nombre d'entre eux jugeaient qu'il faudrait instaurer un programme sentinelle de surveillance de la santé dans le cadre duquel certains sujets sentinelles subiraient un traitement immunosuppresseur temporaire (pendant un maximum de 2 mois) et seraient observés; d'autres estimaient ce projet non réalisable. Selon la Proposition d'une norme canadienne pour la xénotransplantation, il faudrait faire de la mise sur pied d'un programme de surveillance sentinelle une norme et l'intégrer à un train de mesures visant à isoler le troupeau source des agents infectieux⁽⁸⁾. Certains participants ont proposé que le programme sentinelle porte sur le troupeau dont la biosécurité a été établie et non sur chaque portée puisqu'il est impossible de tirer des conclusions sur une période d'environ 15 ans (durée de la vie d'un porc) et qu'il vaudrait mieux disposer de ce gage de sécurité bien avant la xénotransplantation ou aussitôt que possible par la suite.

Bon nombre de répondants n'étaient pas en faveur de l'inoculation de sang, de cellules et/ou de tissus (tous les tissus utiles aux essais cliniques humains proposés) d'animaux sources à des primates non humains (PNH) suivie d'une surveillance des PNH pendant 2 ans, avec ou sans immunosuppression. Ils invoquaient notamment que les PNH sont porteurs d'un grand nombre d'agents infectieux, ce qui engendrerait un niveau de base élevé et rendrait l'interprétation difficile. Le problème se poserait en particulier pour les tests non spécifiques de détection d'agents inconnus. Certaines données

indiquent en outre que les primates non humains ne seraient peut-être pas de bons modèles pour la transmission des PERV⁽²⁰⁾. La Proposition de norme ne traite pas des tests précliniques dans des modèles animaux⁽⁸⁾ même s'ils constituent, en général, une condition préalable aux essais cliniques. Comme les anticorps naturels anti-gal se retrouvent uniquement chez les humains et les primates de l'Ancien Monde, il faudrait mener des études sur des primates non humains pour interpréter les risques de maladies infectieuses dans le cadre des « tests précliniques ». Étant donné que des essais cliniques de transplantation se font officiellement aux É.-U. depuis au moins 1995 et peuvent toucher de 50 à 100 receveurs, on ne sait pas vraiment si l'on a besoin seulement d'études à court terme (jours ou semaines) sur des PNH ou d'un suivi sur quelques années.

La plupart des participants ont convenu que des échantillons d'animaux sources appropriés devraient être cultivés simultanément avec des types de cellules révélatrices humaines appropriées (notamment les PBMC et les PBMC activées), subir des tests de détection des rétrovirus et des herpèsvirus, subir un examen par microscopie électronique (ME) et être soumis à un test de détection des effets cytopathologiques non spécifiques. Il faudrait aussi employer d'autres moyens de détection des pathogènes inconnus (techniques de pointe). Les autres tests comprennent la surveillance courante des agents infectieux à exclusion du troupeau de même que l'histopathologie, l'hématologie et la biochimie. La majorité des répondants estimaient qu'il fallait soumettre le troupeau et vraisemblablement les animaux sources en cause à des tests de dépistage des virus endogènes et endémiques. Bon nombre de participants ne favorisaient pas l'usage de la ME pour la détection visuelle des virions chez les animaux ou le troupeau sources, surtout parce que cette technique exige beaucoup de main-d'œuvre et est relativement insensible, de sorte qu'il faudrait examiner plusieurs coupes de plusieurs tissus pour éliminer un faux négatif (erreur d'échantillonnage). Il a été proposé plutôt de faire appel à la ME au cours d'une enquête et/ou sur le tissu source destiné à la xénotransplantation, soit sur une pièce de biopsie ou sur une portion non utilisée. Par exemple, si l'on procédait à une xéno greffe d'un rein, il faudrait examiner l'autre rein par ME.

Marqueurs indirects

Plusieurs participants ont proposé que l'on étudie la possibilité d'utiliser les marqueurs suivants comme mesure indirecte du risque de maladies infectieuses : vitesse de sédimentation globulaire, dosage de la transcriptase inverse dans le sérum par la méthode PCR (PERT), qui détecterait l'activité enzymatique de la transcriptase inverse caractéristique des rétrovirus, examen des fonctions hépatiques, peut-être dosage de la protéine C-réactive et culture de matériel prélevé chez le patient avec des cellules révélatrices (avant et après la xénotransplantation). Certains doutaient que le développement de la fatigue chronique ou l'insomnie puissent être des marqueurs indirects cliniques utiles; d'autres ont dit que nous devrions élaborer un répertoire de marqueurs susceptibles d'être liés à des complications postérieures à la xéno greffe et les corrélés à ceux de zoonoses confirmées. Pratiquement aucun participant

n'estimait qu'un test sanguin de dépistage précoce du cancer, une analyse de l'activité de la RNase-L dans l'urine ou un examen de l'immunosuppression des PBMC (chez les receveurs non immunodéprimés) constitueraient actuellement des marqueurs indirects d'une xénozoonose.

Analyse d'agents infectieux porcins inconnus

Certains participants trouvaient séduisante l'idée d'utiliser l'analyse de différence représentationnelle ou l'hybridation *in situ* en fluorescence (FISH) modifiée pour détecter chez des receveurs de xénogreffe des agents infectieux porcins qui n'ont jamais été caractérisés, mais d'autres ont fait des mises en garde au sujet de l'usage de méthodes non validées. Qui plus est, ces méthodes peuvent être difficiles à utiliser, poser des problèmes et risquer, par conséquent, de ne pas convenir à la surveillance systématique. Il n'est peut-être pas utile d'indiquer trop précisément les tests à utiliser. Certains participants ont proposé que l'on travaille à rebours, afin de pouvoir recourir à ces « méthodes de recherche » pour identifier et caractériser l'entité inconnue si la présence d'un agent infectieux est fortement soupçonnée.

Réactions aux éclosions de xénozoonose

La quasi-totalité des répondants ont souligné la nécessité de disposer de PNF à l'échelle nationale pour l'analyse, le prélèvement d'échantillons, la mise en quarantaine et la notification en collaboration avec les ministères de la Santé fédéral, provinciaux et territoriaux, mais ils se sont interrogés sur les instances autorisées à prendre de telles mesures. Les participants ont également reconnu que des PNF sur la gestion des échantillons archivés étaient nécessaires. On pourrait, par ailleurs, consulter un comité directeur des archives au sujet de l'utilisation du matériel archivé. Les PNF devraient aussi contenir de l'information sur le traitement à réserver aux animaux sources, notamment le rappel et les procédures de vérification rétrospective et d'étude de l'utilisation des matières en cas d'épidémie. Cette exigence est traitée dans la Proposition d'une norme canadienne pour la xénotransplantation.

Il faut élaborer des PNF à SC pour des isollements cliniques, des moratoires et des inspections ainsi que pour la notification internationale en cas d'épidémie; il faudrait que les deux séries de PNF (nationales et locales) soient en vigueur avant que ne débutent les essais cliniques au Canada.

Enfin, la plupart des répondants ont convenu que les laboratoires locaux et nationaux devraient disposer des installations et des ressources nécessaires en prévision d'éclosions de xénozoonose, notamment des essais témoins. Ces tests pourraient cependant être effectués par des laboratoires agréés. Une personne a suggéré que le promoteur dispose de PNF pour réagir à une éclosion de xénozoonose potentielle, car certains essais cliniques peuvent être multicentriques. Les plans d'intervention d'urgence génériques pourraient intégrer des détails sur les risques de maladies infectieuses liées à la xénotransplantation. Il sera toutefois difficile de concevoir un plan d'intervention

spécifique à un pathogène lié à la xénotransplantation tant que ces agents n'auront pas été identifiés et caractérisés davantage.

La Proposition d'une norme canadienne ne traite pas expressément des éclosions de xénozoonose, mais elle énonce en termes génériques les mesures à prendre en cas de réaction indésirable ou d'infection soupçonnée⁽⁸⁾. Elle recommande là encore de créer des PNF à l'avance sur divers sujets comme la mise en quarantaine, la destruction, l'enquête, le rappel et la notification, mais elle ne donne pas de détails sur les modes et les sujets d'enquête.

III : CONCLUSIONS ET RÉSUMÉ

Un système amélioré de surveillance de la xénotransplantation fait partie de la panoplie de mesures de précaution visant à réduire les risques de maladies infectieuses que courent les receveurs, leurs descendants et les tiers. L'examen critique de la littérature et l'analyse des résultats de l'enquête et du débat montrent que l'élaboration d'une politique provisoire visant à améliorer la surveillance dans le domaine des essais cliniques de xénotransplantation pourra être utile au cadre de réglementation actuel du Canada. Il semble également nécessaire d'harmoniser la surveillance des essais cliniques de xénotransplantation à l'échelle internationale afin de réduire les risques de maladies infectieuses pour les receveurs et les tiers.

Bien que l'étude de la littérature sur les PERV semble indiquer qu'il y a à tout le moins un risque théorique de transmission de ces rétrovirus aux humains par l'entremise de la xénotransplantation, des données récentes révèlent que l'on pourrait réduire ce risque au minimum. Ainsi, des données préliminaires du D^r Clive Patience, scientifique principal chez BioTransplant Inc., montrent que l'on pourrait élever des troupeaux de porcs qui ne produiraient pas de PERV infectieux et capables de se répliquer⁽³³⁾. Il reste toutefois à déterminer si l'élevage spécial ou le clonage des animaux pourra effectivement mettre un terme à la production de virus endogènes ou endémiques capables de se répliquer.

Il y a plusieurs questions importantes à régler en ce qui concerne l'évaluation de la sécurité préclinique avant de songer à mener des essais cliniques au Canada. Mentionnons notamment les choix à faire entre des études sur les PNH (efficacité et innocuité) ou sur les risques de maladies infectieuses (transmissibilité des agents infectieux porcins aux primates) et les durées minimales de suivi chez les animaux.

Bref, ce n'est que grâce à des efforts nationaux et internationaux que nous pourrons concevoir et instaurer efficacement des mesures de surveillance améliorée en matière de xénotransplantation qui permettront de cerner, de restreindre et de réduire au minimum les risques de maladies infectieuses pour les receveurs, leurs descendants et les tiers à l'échelle mondiale. Le présent rapport a soulevé un certain nombre de problèmes et de points qui donneront lieu à d'autres débats nationaux et internationaux.

IV : RÉFÉRENCES

1. *National Forum on Xenotransplantation: clinical, ethical and regulatory issues, November 1997.* URL: <http://www.hc-sc.gc.ca/hpb-dgps/therapeuti/zfiles/english/btox/reports/frmrpt_e.pdf>.
2. *Notice to interested parties: intent to develop a regulatory framework for xenografts.* URL: <http://www.hc-sc.gc.ca/hpb-dgps/th...es/english/btox/notices/noi_e.html>. Date of access: February 6, 1999.
3. *Notice to hospitals from the Therapeutic Products Programme. March 29, 1999. The clinical use of viable animal cells, tissues, or organs to treat patients.* URL: <http://www.hc-sc.gc.ca/hpb-dgps/th...x/notices/noticetohospitals_e.html>.
4. *Xenotransplantation (Factsheet).* Revised July 1999. URL: <http://www.hc-sc.gc.ca/hpb-dgps/th.../english/fact-sht/fact_xeno_e.html>.
5. *Adverse Drug Reaction (ADR) Expedited Reporting Summary Form (to be used for ADRs occurring during clinical trials).* URL: <http://www.hc-sc.gc.ca/hpb-dgps/th...zfiles/english/forms/ct_adr_e.html>.
6. *Preparation of an Application for Investigational Testing (Devices).* URL: <http://www.hc-sc.gc.ca/hpb-dgps/therapeutic/zfiles/english/guides/meddev/test_md3_e.pdf>. Date of access: February 22, 1999.
7. *Mandatory and voluntary problem reporting for medical devices.* URL: <http://www.hc-sc.gc.ca/hpb-dgps/therapeutic/zfiles/english/guides/meddev/manrpt2_e.pdf>. Date of access: September 14, 1998.
8. *Proposed Canadian Standard for Xenotransplantation.* URL: <http://www.hc-sc.gc.ca/hpb-dgps/therapeut/zfiles/english/btox/Standard/xeno_std_e.html>.
9. *PHS Guideline on Infectious Disease Issues in Xenotransplantation.* (61 Federal Register 49919). URL: <<http://www.fda.gov/cber/gdlns/xeno.txt>>. Date of access: September 23, 1996.
10. *PHS Guideline on Infectious Disease Issues in Xenotransplantation..* URL: <<http://www.fda.gov/cber/gdlns/xeno0500.pdf>>. Date of access: May 26, 2000.
11. *Agency information collection activities; proposed collection; comment request, Food and Drug Administration, HHS, Docket No. 96M-0311 and see Federal Register website,* URL: <http://frwebgate.access.gpo.gov/cgi-bin/...bname=2000_register&docid=00-13340-filed>.
12. *Guidelines for reporting adverse events associated with vaccine products.* CCDR 2000;26(S1). See Website: <http://www.hc-sc.gc.ca/hpb/lcdc/publicat/ccdr/00vol26/26s1/index.html>.
13. *Council of Europe, Working Party on Xenotransplantation (CDBI/CDSP-XENO). Report of the state of the art of xenotransplantation.* URL: <<http://www.coe.fr/dase/en/qoflife/publi/artreport/tableart.htm>>.
14. *United Kingdom Xenotransplantation Interim Regulatory Authority: Draft report of the Infection Surveillance Steering Group of the UKXIRA.* URL: <<http://www.doh.gov.uk/surveil.htm>> last updated August 4, 1999; for other related documents, URL: <<http://www.doh.gov.uk/ukxira.htm>>.

15. WHO. *Xenotransplantation: guidance on infectious disease prevention and management WHO/EMC, (1998)*. URL: <<http://www.who.int/emc-documents/zoonoses/whoemczoo981c.html>> and for listing see index at URL: <<http://www.who.int/emc-documents/index.html>>.
16. Yoo D, Giulivi A. *Xenotransplantation and the potential risk of porcine viruses for xenogeneic transmission*. *Can J Veterinary Res* 2000;64:193-203.
17. Labrique AB, Thomas DL, Stoszek SK et al. *An emerging infectious disease*. *Epidemiol Rev* 1999;21:162-79.
18. Weiss RA, Griffiths D, Takeuchi Y et al. *Retroviruses: ancient and modern*. *Arch Virol Suppl* 1999;15:171-77.
19. Patience C, Takeuchi Y, Weiss RA. *Infection of human cells by an endogenous retrovirus of pigs*. *Nature Medicine* 1997;3:282-86.
20. Takeuchi Y, Patience C, Magre S et al. *Host range and interference studies of three classes of pig endogenous retrovirus*. *J Virol* 1998;72:9986-91.
21. Denner J. *Immunosuppression by retroviruses: implications for xenotransplantation*. *Ann NY Acad Sci* 1998;862:75-86.
22. Martin U, Kiessig V, Blusch JH et al. *Expression of pig endogenous retrovirus by primary porcine endothelial cells and infection of human cells*. *Lancet* 1998;352:692-94.
23. Van Der Laan LJW, Lockey C, Griffith BC et al. *Infection by porcine endogenous retrovirus after islet xenotransplantation in SCID mice*. *Nature* 2000;407:501-4.
24. Tacke SJ, Kurth R, Denner J. *Porcine endogenous retroviruses inhibit human immune cell function: risk for xenotransplantation?* *Virology* 2000;268:87-93.
25. Clemenceau B, Lalain S, Martignat L et al. *Porcine endogenous retroviral mRNAs in pancreas and a panel of tissues from specific pathogen-free pigs*. *Diabetes Metab* 1999;25:518-25.
26. Paradis K, Langford G, Long Z et al. *Search for cross-species transmission of porcine endogenous retrovirus in patients treated with living pig tissue*. *Science* 1999;285:1236-41.
27. Pitken Z, Mullon C. *Evidence of absence of porcine endogenous retrovirus (PERV) infection in patients treated with a bioartificial liver support system*. *Artif Organs* 1999;23:829-33.
28. Switzer WM, Shanmugam V, Chapman et al. *Polymerase chain reaction assays for the diagnosis of infection with the porcine endogenous retrovirus and the detection of pig cells in human and nonhuman recipients of pig xenografts*. *Transplantation* 1999;68:183-88.
29. Martin U, Steinhoff G. *Porcine endogenous retroviruses (PERV): in vitro artifact or a big problem for xenotransplantation?* *DTW-Dtsch-Tierarztl-Wochenschr* 1999;106:146-49.
30. Patience C, Patton GS, Takeuchi Y et al. *No evidence of pig DNA or retroviral infection in patients with short-term extracorporeal connection to pig kidneys*. *Lancet* 1998;352:699-701.
31. Heneine W, Tibell A, Switzer WM et al. *No evidence of infection with porcine endogenous retrovirus in recipients of porcine islet-cell xenografts*. *Lancet* 1998;352:695-98.
32. Deacon T, Schumacher J, Dinsmore J et al. *Histological evidence of fetal pig neural cell survival after transplantation into a patient with Parkinson's disease*. *Nature Medicine* 1997;3:350-53.
33. Patience C. *Sessional report on xenotransplantation: potential for infection*. The XVIII Meeting of the International Congress of the Transplantation Society, Rome, Italy, August 28, 2000.

ANNEXE A : Liste des participants

Présidente :

D^{re} Marian Laderoute

Directrice de recherches, Unité des zoonoses hématogènes

Division des agents pathogènes à diffusion hématogène

Bureau des maladies infectieuses

Laboratoire de lutte contre la maladie

Santé Canada

Pré Tunney, IA 0601E2

Ottawa (Ontario) Canada K1A 0L2

tél : (613) 941-6087 **fax :** (613) 952-6668 **courriel :** marian_laderoute@hc-sc.gc.ca

D^{re} Francisca Agbanyo

Biologiste/évaluatrice principale

Division de sang et tissus

Bureau des produits biologiques et des radiopharmaceutiques

Programme des produits thérapeutiques

Santé Canada

Pré Tunney, Pièce 3356, IA 0603C3

Ottawa (Ontario) K1A 0L2

tél : (613) 954-5705 **fax :** (613) 941-5841 **courriel :** francisca_agbanyo@hc-sc.gc.ca

D^r Upton Allen

Associate Professor

Division of Infectious Diseases

Department of Paediatrics

University of Toronto

The Hospital for Sick Children

555 University Avenue

Toronto, Ontario M5G 1X8

tél : (416) 813-8129 **fax :** (416) 813-5032 **courriel :** upton.allen@sickkids.on.ca

D^r Karl-Friedrich Bopp

Conseil de l'Europe

Division de la santé

67075 Strasbourg Cedex

FRANCE

tél : + 33 388 41 2214 **fax :** + 33 388 41 2726 **courriel :** karl-friedrich.bopp@coe.int

D^r Daniel Butler

Ontario Veterinary College
Department of Clinical Studies
University of Guelph
Guelph, Ontario N1G 2W1
tél : (519) 824-4120 ext. 4012 fax : (519) 767-0311 courriel : dbutler@uoguelph.ca

D^{re} Louisa Chapman

Medical Epidemiologist
National Center for Infectious Diseases
Centers for Disease Control & Prevention
Mailstop G-19, 1600, Clifton Rd., N.E.
Atlanta, GA 30333 USA
tél : (404) 639-1028 fax : (404) 639-0868 courriel : lec3@cdc.gov

D^r Michael Coulthart

Chef, Maladies à prions
Bureau de microbiologie
Centre scientifique canadien de la santé humaine et animale
Laboratoire de lutte contre la maladie
Santé Canada
1015 Arlington St., Winnipeg (Manitoba) R3E 3R2
tél : (204) 789-6026 fax : (204) 789-5021 courriel : mike_coulthart@hc-sc.gc.ca

D^r Francisco Diaz-Mitoma

Chef, Laboratoire régional de virologie
Hôpital pour enfants de l'est de l'Ontario
401 chemin Smythe
Ottawa (Ontario) K1H 8L1
tél : (613) 737-2736 fax : (613) 738-4825 courriel : diaz@cheo.on.ca

D^r Claude Dubuc

Biologiste principal
Division des vaccins
Bureau des produits biologiques et des radiopharmaceutiques
Programme des produits thérapeutiques
Santé Canada
Pré Tunney, Pièce 3340, IA 0603C3
Ottawa (Ontario) K1A 0L2
tél : (613) 954-1402 fax : (613) 941-5841 courriel : claud_dubuc@hc-sc.gc.ca

M^{me} Susie ElSaadany

Statisticienne

Division des agents pathogènes à diffusion hématogène

Bureau des maladies infectieuses

Laboratoire de lutte contre la maladie

Santé Canada

Pré Tunney, IA 0601E2

Ottawa (Ontario) Canada K1A 0L2

tél : (613) 952-6925 fax : (613) 952-6668 courriel : susie_elsaadany@hc-sc.gc.ca

D^r Ezzat Farzad

Médecin spécialiste

Division des agents pathogènes à diffusion hématogène

Bureau des maladies infectieuses

Laboratoire de lutte contre la maladie

Santé Canada

Pré Tunney, IA 0601E2

Ottawa (Ontario) Canada K1A 0L2

tél : (613) 952-8228 fax : (613) 952-6668 courriel : ezzat_farzad@hc-sc.gc.ca

D^r Claude Gardell

Gérant, p.i.

Division des vaccins

Bureau des produits biologiques et des radiopharmaceutiques

Programme des produits thérapeutiques

Santé Canada

Pré Tunney, Pièce 3340, IA 0603C3

Ottawa (Ontario) K1A 0L2

tél : (613) 957-4133 fax : (613) 941-5841 courriel : claud_gardell@hc-sc.gc.ca

D^r David Grant

Surgical Director

Multi-Organ Transplant Program

Toronto General Hospital

621 University Ave., NU-10-114

Toronto, Ontario M5G 2C4

tél : (416) 340-5230 fax : (416) 595-1905 courriel : david@grant-web.com

M. Martin Houghton

UKXIRA Secretariat

Department of Health

UK Xenotransplantation Interim Regulatory Authority

Room 311, Wellington House

133-155 Waterloo Rd.

Londres, R.-U. SE1 8UG

tél : 0171 972 4822 fax : 0171 972 4852 courriel : martin.houghton@doh.gsi.gov.uk

D^r Atul Humar

Assistant Professor, Department of Medicine
University of Toronto
Infectious Diseases and Multi-Organ Transplantation
Toronto General Hospital - University Health Network
200 Elizabeth Street; NUW 9-132
Toronto (Ontario) M5G 2C4
tél : (416) 340-4800 ext. 6752 **fax :** (416) 340-5047 **courriel :** atul.humar@uhn.on.ca

D^{re} Rima Khabbaz

Deputy Director
Division of Viral and Rickettsial Diseases (MS A-30)
National Center for Infectious Diseases
Centers for Disease Control and Prevention
1600 Clifton Rd., N.E., Room 117-B, Building 3
Atlanta, GA, É.-U. 30333
tél : (404) 639-2775 **fax :** (404) 639-3163 **courriel :** rfk1@cdc.gov

M. Andre La Prairie

Gestionnaire, Projet du sang, des tissus, des organes et des xénogreffes
Bureau de la politique et de la coordination
Programme des produits thérapeutiques
Santé Canada
2^e étage, Holland Cross, Tour B
Ottawa (Ontario) K1A 1B6
tél : (613) 941-5513 **fax :** (613) 941-6458 **courriel :** andre_la_prairie@hc-sc.gc.ca

D^r Khazal Paradis

Imutran Ltd (Novartis Pharma)
P.O. Box 399
Cambridge, CB2 2YP
Royaume-Uni
tél : 44 788 793- 2108 **fax :** 44 1223 847 467
courriel : khazal.paradis@pharma.novartis.com

D^{re} Charlotte Rigby

Direction des laboratoires
Agence canadienne d'inspection des aliments
59 chemin Camelot
Nepean (Ontario) L1A 0Y9
tél : (613) 225-2342, ext. 4002 **fax :** (613) 228-6656 **courriel :** crigby@em.agr.ca

D^{re} Elettra Ronchi

Coordonnatrice en chef, Activités en biotechnologie et soins de santé

OECD - DSTI - BU

2 rue André Pascal

Paris, 75016 FRANCE

tél : 33-1-4524-1828 fax : 33-1-4524-1825 courriel : elettra.ronchi@oecd.org

D^r Erling Rud

Chef

Laboratoire national de la pathogénèse du VIH

Bureau du VIH/sida, des MTS et de la tuberculose

Laboratoire de lutte contre la maladie

Santé Canada

IA 0603B, Ottawa (Ontario) K1A 0L2

tél : (613) 957-8049 fax : (613) 780-8987 courriel : erling_rud@hc-sc.gc.ca

D^{re} Eileen Tackaberry

Division des services de recherches

Bureau des produits biologiques et des radiopharmaceutiques

Banting Research Centre, Pièce 205

Programme des produits thérapeutiques

Santé Canada

Pré Tunney, IA 2201C

Ottawa (Ontario) K1A 0L2

tél : (613) 952-6820 fax : (613) 941-8933 courriel : eileen_tackaberry@hc-sc.gc.ca

D^r Jean Tchervenkov

Royal Victoria Hospital

General Surgery

687 Pine Avenue West, Suite S10.30

Montréal (Québec) H3A 1A1

tél : (514) 842-1231 Ext. 4042 fax : (514) 843-1434

courriel : tchervenkov@hotmail.com

D^r Dan Tucker

Veterinary Services

Imutran Ltd (A Novartis Pharma AG Company)

PO Box 399

Cambridge R.-U. CB2 2YP

tél : (011) 44 1223 840834 fax : (011) 44 1223 840444

courriel : dan.tucker@pharma.novartis.com

D^r Dongwan Yoo

Assistant Professor of Virology

Department of Pathobiology

Ontario Veterinary College

University of Guelph

Guelph (Ontario) N1G 2W1

tél : (519) 824-4120 fax : (519) 767-0809 courriel : dyoo@ovc.uoguelph.ca

D^r Shimian Zou

A/Chief CABBI

Division des agents pathogènes à diffusion hématogène

Bureau des maladies infectieuses

Laboratoire de lutte contre la maladie

Santé Canada

Pré Tunney, IA 0601E2

Ottawa (Ontario) Canada K1A 0L2

tél : (613) 946-8819 fax : (613) 952-6668 courriel : shimian_zou@hc-sc.gc.ca

Observateurs de Santé Canada :

M. Adam Probert et le D^r Farid Hindieh

ANNEXE B : analyse et enquête

Quels éléments de données sont essentiels à la surveillance de la xénotransplantation?

- données démographiques sur les donneurs
- données démographiques sur le receveur
- régime immunosuppresseur
- antécédents de transfusion/transplantation
- maladies infectieuses et cancer antérieurs ou actuels
- événements indésirables graves
- autres événements indésirables
- liens avec les échantillons archivés
- liens avec les tests de détection de maladies infectieuses et leurs résultats
- liens avec les animaux sources
- fréquence et durée de l'exposition
- type de greffon
- protocole d'induction de la tolérance (s'il y a lieu)
- autres

Définition d'un « événement indésirable »

- définition de la Proposition d'une norme canadienne : un résultat indésirable, direct ou indirect, de l'allogreffe (p. ex., infection, transmission de maladie contagieuse, défaillance de la greffe)
- toute modification notable de l'état de santé ou du bien-être du receveur, réversible ou non, exigeant une intervention ou des soins médicaux, notamment le décès, l'incapacité, la transmission d'une maladie, l'infection ou l'hospitalisation, liée directement ou indirectement au protocole de xénotransplantation

Qu'est-ce qu'un événement indésirable « grave »?

- décès
- cancer
- incapacités, notamment la fatigue chronique
- tout événement exigeant l'hospitalisation
- infection

- rejet du greffon
- autres

Quels événements indésirables pourraient être liés à une infection?

- décès
- cancer/auto-immunité
- incapacités, notamment la fatigue chronique, le coma, la paralysie, la confusion mentale, les changements de comportement
- rejet ou mauvais fonctionnement du greffon
- éruption, fièvre, modifications gastro-intestinales, hépatite, pneumonie, variations du poids, etc.
- autres

Quels événements indésirables justifient une enquête sur une zoonose potentielle?

- décès
- cancer/auto-immunité
- incapacités, notamment la fatigue chronique, le coma, la paralysie, la confusion mentale, les changements de comportement
- rejet ou mauvais fonctionnement du greffon
- éruption, fièvre, modifications gastro-intestinales, hépatite, pneumonie, variations du poids, etc.
- autres

Quels devraient être les délais pour l'inscription des données au registre et la déclaration des événements indésirables?

- les normes mentionnent un délai de 72 heures pour la collecte des données.
- les événements indésirables touchant des receveurs devraient être déclarés immédiatement (ou sans délai), c'est-à-dire au plus tard dans les 72 heures.
- les événements indésirables touchant des animaux sources devraient aussi être déclarés immédiatement, au plus tard dans les 72 heures.
- le délai est de 24 heures dans les cas des infections/zoonoses potentielles.
- autres aspects

Quels échantillons de receveurs doit-on recueillir pour la surveillance?

- échantillons de départ pour la surveillance courante et échantillons destinés aux archives locales et nationales pour les enquêtes
- plasma (au moins 5 aliquots de 0,5 mL x 2)

- sérum (au moins 5 aliquots de 0,5 mL x 2)
- PBMC (au moins 3 aliquots de 1×10^6 x 2)
- urine (échantillons de 3 mL de l'urine du matin?)
- autres aspects

Quels échantillons d'animaux sources doit-on recueillir pour la surveillance exercée au moyen des archives nationales?

- plasma (au moins 5 aliquots de 0,5 mL)
- sérum (au moins 5 aliquots de 0,5 mL)
- PBMC (au moins 5 aliquots de 1×10^7)
- échantillon/biopsie du xéno greffon
- autres aspects

Quels échantillons doit-on recueillir pour la surveillance des contacts étroits exercée au moyen des archives nationales?

- plasma (au moins 5 aliquots de 0,5 mL)
- sérum (au moins 5 aliquots de 0,5 mL)
- PBMC (au moins 5 aliquots de 1×10^6)
- échantillons de départ, de routine et d'enquête
- autres aspects

Quels échantillons doit-on recueillir pour la surveillance des travailleurs de la santé exercée au moyen des archives nationales?

- plasma (au moins 5 aliquots de 0,5 mL)
- sérum (au moins 5 aliquots de 0,5 mL)
- PBMC (au moins 5 aliquots de 1×10^6)
- échantillons de départ, de routine et d'enquête
- autres aspects

Quel calendrier de prélèvement d'échantillons chez les receveurs faudrait-il privilégier? (choisissez UNE SEULE de ces réponses)

- 1 échantillon de départ, 1 échantillon par semaine pendant les 3 premiers mois, 1 échantillon par mois pendant les 9 mois suivants, 1 échantillon tous les 6 mois pendant 2 ans, puis 1 échantillon par année (et pour tout événement indésirable grave)
- 1 ÉCHANTILLON DE DÉPART, 1 échantillon toutes les 2 semaines pendant les 3 premiers mois, 1 échantillon par mois pendant les 3 mois suivants, puis 1 échantillon par année (et pour tout événement indésirable grave)
- autre

Quel calendrier de prélèvement d'échantillons chez les contacts étroits faudrait-il privilégier? (choisissez UNE SEULE de ces réponses)

- 1 échantillon de départ, 1 échantillon par mois pendant les 3 premiers mois, puis 1 échantillon par année (et pour toute enquête sur un événement indésirable grave)
- 1 ÉCHANTILLON DE DÉPART, 1 échantillon tous les 3 mois, puis 1 échantillon par année (et pour toute enquête sur un événement indésirable grave)
- autre

Quel bilan préclinique du troupeau donneur faut-il établir?

- détection de divers pathogènes porcins, et le programme du troupeau animal sentinelle ne révèle pas de pathogènes
- comme ci-dessus, mais certains animaux sentinelles reçoivent un traitement immunosuppresseur pendant 2 mois et aucun pathogène n'est identifié
- du sang et des cellules/tissus des animaux donneurs sont inoculés à des PNH, et une surveillance de leur santé est exercée pendant au moins 2 ans
- du sang et des cellules/tissus des animaux donneurs sont inoculés à des PNH ayant subi un traitement immunosuppresseur, et une surveillance de leur santé est exercée pendant au moins 2 ans
- co-culture d'échantillons de donneurs avec divers types de cellules révélatrices humaines appropriées (notamment les PBMC et les PBMC activées), détection des rétrovirus et des herpèsvirus, recherche des virus par microscopie électronique (ME), détection des effets cytopathologiques et utilisation d'autres moyens non spécifiques de détection de pathogènes inconnus
- autre
- détection des rétrovirus endogènes dans les troupeaux (PERV, activité de la transcriptase inverse), des herpèsvirus endémiques (en particulier le CMVp et les circovirus ainsi que l'ADN polymérase pour les herpèsvirus), de l'hépatite E et d'autre virus tels :
- emploi de la ME ou d'autres techniques visuelles pour la production de virions

Quels marqueurs indirects des effets indésirables susceptibles d'être liés à une zoonose pourraient être utiles?

- la RT-PCR de l'alpha-foetoprotéine dans les PBMC pour la détection précoce du cancer, l'immunosuppression (liée au cancer ou à l'infection)
- l'activité de la RNase-L : protéine activée sécrétée dans l'urine
- l'ARN ribosomique pour les bactéries
- d'autres marqueurs indirects d'infections virales tels :

Quelles méthodes pourrait-on utiliser pour détecter des agents zoonotiques inconnus?

- analyse de différence représentationnelle (pour détecter le HHV-8 dans la maladie de Kaposi) {technique faisant appel à la PCR pour amplifier de nouvelles séquences non retrouvées dans le pré-échantillon}
- hybridation in situ en fluorescence (FISH) modifiée (à l'aide de préparations de chromosomes lymphocytaires des receveurs recueillis avant et après la xénogreffe, étiquetage de l'ADNc avant et après (coupé avec certaines enzymes de restriction) de PBMC ayant divers fluorochromes
- autre

Comment faut-il se préparer pour faire face à une éclosion de xénozoonose?

- élaborer des PNF à l'échelle du registre ou des archives nationaux pour l'analyse, le prélèvement d'échantillons, la mise en quarantaine et la notification en collaboration avec les ministères de la Santé FPT
- élaborer des PNF à Santé Canada (PPT) pour des retenues cliniques, des moratoires et des inspections ainsi que pour la notification internationale
- veiller à ce que les laboratoires disposent des installations et des ressources nécessaires (p. ex., budget, personnel, contrats) pour faire des analyses et du séquençage à l'échelle locale et nationale
- autre