

Encéphalopathie spongiforme bovine et variante de la maladie de Creutzfeldt-Jakob :

quelques informations concernant l'origine, le diagnostic, l'épidémiologie, l'analyse du risque et l'avenir

ROELS S. , DE MEYER G., VANOPDENBOSCH E.

Article original dans Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift, 2000, 69, 371-376.

Centre d'étude et Recherches Vétérinaires et Agrochimiques, Site Uccle
Département de Biocontrôle, Section de Pathologie, Groeselenberg 99, 1180 Bruxelles
Correspondance : stroe@var.fgov.be

RESUME : Ce texte donne un résumé de la connaissance actuelle concernant l'origine de l'encéphalopathie spongiforme bovine et la nouvelle variante de Creutzfeldt-Jakob. Le diagnostic, l'épidémiologie, l'analyse géographique de risque développée par la Commission Européenne et finalement les perspectives pour le futur sont également décrites.

INTRODUCTION

L'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) chez les bovins, la tremblante chez le mouton, et la maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ) chez l'homme font partie d'un groupe d'encéphalopathies spongiformes progressives qui sont causées par une protéine non-conventionnelle et transmissible qui est très résistante à l'inactivation par la chaleur, ou les procédés de stérilisation et de désinfections habituels.

Ces maladies ont plusieurs caractéristiques en commun :

- Une période d'incubation longue qui peut varier, selon la voie d'infection et l'espèce de quelques mois à plusieurs dizaines d'années ;
- Une évolution progressive et fatale avec des changements de comportement et des troubles moteurs ;
- Une image histopathologique montrant la présence de lésions de dégénérescence du tissu cérébral, dont la caractéristique est une vacuolisation des neurones et du neuropile. Ces lésions sont plus fréquemment observées au niveau du tronc cérébral ;

- La présence de structures fibrillaires anormales en microscopie électronique ("*scrapie associated fibrils*" ou "SAF's") sur des extractions de tissu cérébral, après traitement avec la protéinase K. Ces structures ont une longueur qui varie de 50 à 400 nanomètres, avec un diamètre de 11 à 14 nanomètres et consistent en deux ou quatre filaments entrelacés.

L'origine semble être le prion ("*Proteinaceous Infectious Particle*"), un agent infectieux de très petite taille, de nature principalement protéique : la protéine prion ou la PrP, qui, au vu des connaissances actuelles, n'est pas associée à de l'ARN ou l'ADN. Cette PrP est codée par un gène PrP.

Il existe une protéine prion normalement présente au niveau de la membrane des neurones. Celle-ci est connue sous le nom de PrP^c ou protéine prion cellulaire. En cas de contact avec l'agent infectieux, la protéine prion cellulaire change de configuration et se transforme en forme pathologique, la PrP scrapie ou PrP "résistante" (PrP^{res}). Celle-ci va s'accumuler dans le cytoplasme des neurones en formant des agrégats de

glycoprotéines, qui formeront des fibrilles.

Des mutations spontanées de PrP^c en PrP^{res} sont également décrites, mais ceci est très rare et pourrait être la cause des cas sporadiques d'encéphalopathies spongiformes infectieuses. Il existe également des présomptions quant à l'existence d'un facteur supplémentaire, la Protéine X, qui serait nécessaire à la transformation en PrP^{res}.

Il est démontré qu'*in vitro*, la PrP^{res} ESB et la PrP^{res} scrapie convertissent, à peu près avec la même efficacité, la PrP^c humaine en PrP^{res}.

Expérimentalement, une infection peut être transmise entre deux espèces différentes. Par cette voie, l'ESB peut provoquer la maladie après inoculation intracérébrale chez le singe, le porc, le souris et le mouton. La voie de transmission perorale est dans la plupart des cas moins efficace.

Les expériences n'ont pas pu confirmer l'hypothèse que l'agent responsable de la tremblante était à l'origine de l'épidémie d'ESB : la tremblante transmise à des bovins donne un

image de tremblante "bovin", de même que l'ESB transmise à des moutons donne un image "ESB ovin". Ceci est caractéristique de ce genre de maladies : les caractéristiques restent inchangées dans la transmission d'une espèce à l'autre.

Le fait qu'aucune des 22 souches connues de la tremblante ressemble à la souche unique d'ESB, fait penser que des cas d'ESB apparaissant sporadiquement dans la population bovine, étaient "recyclés" parmi celle-ci (sans barrière entre espèce), et que de cette façon, l'ESB a pu se disperser.

Depuis 1985 et jusqu'au 1^{er} août 2001, il y a eu environ 180.000 cas d'ESB confirmés dans plus de 54.000 fermes du Royaume-Uni (RU), plus particulièrement dans des élevages laitiers (62 %). L'épidémie est maintenant en régression avec 4.335 cas en 1997 et 3.197 en 1998, 2.281 en 1999, 1.424 en 2000, et 390 en 2001 (fin juillet) après un sommet de 37.056 cas en 1992. Ceci est dû à un nombre de mesures prises au RU comme le "*Ruminant Protein Feed Ban*" de 1988 qui stipule qu'on ne peut plus nourrir avec des farines animales provenant de ruminants d'autres ruminants, et comme le "*Specified Bovine Offal Ban*" (SBO ban) de 1990 (rendu plus sévère en 1995), où un grand nombre de matériaux à risque potentiel comme le cerveau, la moelle épinière, les intestins, le thymus et les amygdales de tout bovin de plus de 6 mois, devaient être détruits et ainsi éliminés de la chaîne alimentaire animale et humaine.

Globalement, il est accepté que la cause principale de l'épidémie au RU provienne de la fourniture de farines infectées à des bovins.

Dans le texte suivant, les avis les plus récents concernant l'ESB sont discutés plus en détail, notamment l'étiologie et les aspects épidémiologiques aussi bien au RU, que dans d'autres pays. L'évaluation du danger pour la santé publique concernant les cas récents de la nouvelle variante de la maladie de CJ (v-MCJ) au RU, France et Irlande est aussi abordé. La situation en Belgique est également présentée, ainsi que l'analyse des risques géographiques, les implications possibles de ceux-ci sur le matériel à risque spécifié, et l'implication des tests rapides de l'ESB.

2. ASPECTS ÉTIOLOGIQUES DE L'ÉPIDÉMIE D'ENCÉPHALOPATHIE SPONGIFORME BOVINE AU ROYAUME-UNI

2.1. L'origine de l'épidémie d'encéphalopathie spongiforme bovine au Royaume-Uni : bovin ou mouton ?

Au début de l'épidémie d'ESB au RU, l'origine de l'infection des bovins était attribuée à la nourriture contaminée par la tremblante. Néanmoins, le recyclage des abats contaminés d'origine bovine est probablement à l'origine de la véritable explosion du nombre de cas chez les bovins. En fait, l'ESB pourrait avoir une origine bovine, en effet, une maladie sporadique pourrait exister chez les bovins, à très faible incidence. Ceci peut expliquer l'existence d'un tel phénomène dans d'autres pays.

Actuellement, deux hypothèses expliquant l'origine de l'épidémie d'ESB se confrontent, car il faut pouvoir expliquer la raison de l'unicité de l'agent responsable de l'ESB.

Il peut s'agir soit de la sélection d'une souche de l'agent responsable de la tremblante, provenant notamment des modifications intervenues dans les procédés de décontamination des aliments pour le bétail en Grande-Bretagne. Pour l'hypothèse "origine mouton", les arguments sont l'existence de l'épidémie en RU avec l'ampleur que l'on connaît, et l'absence de telles épidémies dans d'autres états membres, ceci pouvant être dû à la combinaison de deux facteurs :

- 1) Changements dans le processus de destruction dans les années '80, à partir desquelles l'inactivation est devenue moins efficace;
- 2) Augmentation de la population des moutons durant cette période avec une augmentation drastique des cas de tremblante.

Récemment, l'hypothèse émise est que des moutons atteints par plusieurs souches de la tremblante et de l'ESB, peuvent masquer l'ESB. Durant le traitement des farines animales à haute température, la souche de l'ESB qui est la plus résistante, pourrait être sélectionnée et avoir pour résultat final une infection des bovins (Prusiner, 2000 (communica-

tion personnelle); Baron and Biacabe, 2001)

Soit d'un agent d'origine bovine. Ceci implique deux choses :

- 1) Cette forme épidémiologique doit montrer une dispersion géographique importante, exister de manière naturelle ou autre que la nourriture, avec une incidence très basse des symptômes cliniques;
- 2) De cette forme "avirulente" serait sélectionnée une forme plus virulente par l'intermédiaire du recyclage des nourritures.

Pour l'ESB, ni la sensibilité envers l'infection, ni la durée de l'incubation ne paraissent être définies par des différences génétiques dans le gène PrP, et ceci contrairement à ce qui se passe chez l'homme (MCJ) et le mouton (tremblante). Ceci est basé sur les faits suivants :

- 1) Il n'y a pas d'indications que la prévalence de l'ESB est différente d'une race bovine à une autre;
- 2) La gravité et la dispersion des lésions vacuolaires cérébrales dans des cas d'ESB naturelles sont plutôt uniformes;
- 3) Contrairement à la situation de la tremblante, il y a plutôt très peu de polymorphisme trouvé dans le gène PrP bovin d'ESB;
- 4) Des infections expérimentales dans différentes races bovines ont donné des lésions et des temps d'incubation uniformes.

L'expansion de l'épidémie au RU est amplifiée par la transmission de l'infection de bovin à bovin via la nourriture. Un tel recyclage a donné un passage en série résultant dans la sélection d'une seule souche "dominante" de l'agent qui était adapté aux bovins.

De plus en plus, il apparaît que dans l'épidémie du RU et de l'Union européenne (UE), il est seulement question d'une souche d'ESB, différente de toutes les souches connues de la tremblante. Des études épidémiologiques montrent que les tous premiers cas d'ESB sont apparus simultanément dans des régions géographiques très éloignées dans les îles britanniques. Cette constatation exclut l'hypothèse selon laquelle l'ESB provient d'une souche de la tremblante ayant subi une mutation. Cette souche serait plus pathogène pour des bovins que

les souches qui existaient déjà. Actuellement, la théorie selon laquelle la tremblante est à l'origine de l'ESB, n'est plus considérée comme absolue par la majorité des scientifiques. Il faut ajouter que des transmissions expérimentales par voie intra-cérébrale ou orale de bovins, ont donné des signes cliniques et des lésions histologiques différents de l'ESB typique. Ceux-ci ressemblent plutôt à des signes et lésions de tremblante. Au contraire, des moutons et des chèvres infectés par l'ESB développent plutôt une pathologie semblable à l'ESB.

Entre temps, il a été reconnu que les procédés anciens de fabrication des farines animales, basés sur l'extraction avec de l'éther, suivie par une longue cuisson à la vapeur n'inactivent eux non plus totalement l'agent responsable de l'ESB.

Ceci signifie que ni l'existence de la tremblante, ni le changement du processus de production ne peuvent expliquer totalement l'épidémie d'ESB du RU, et que chaque pays avec des cas sporadiques d'ESB peut être victime d'une épidémie comparable si toutes les routes de transmission de sont pas éliminées efficacement.

La donnée constante pendant l'épidémie d'ESB au RU est l'incidence très basse d'apparition des cas d'ESB dans les fermes. Ceci pourrait être expliqué comme résultat direct de l'exposition moyenne des bovins à l'ESB. Les bovins des fermes atteintes y sont également sensibles.

L'exposition moyenne dans les fermes atteintes peut être estimée à pas plus de 10 DI50 d'exposition orale de l'agent responsable de l'ESB par tonne de nourriture concentrée. D'autre part, on sait maintenant que 0,1 gramme de tissu cérébral inoculé de manière parentérale peut provoquer une infection chez le bovin et le mouton. Le concept de l'exposition à une dose basse a des conséquences importantes :

- 1) L'infection des farines animales par l'ESB, est dominée par quelques tissus avec une infectivité élevée: catégorie I et II dans le cas de la tremblante, catégorie I dans le cas de l'ESB. La catégorie I reprend le cerveau et la moelle épinière, la catégorie II l'iléon avec ganglions, le colon proximal, la rate et les amyg-

dales. C'est sur cette présomption le plan des "SBO" ("*Specified Bovine Offal*") du RU est basé. Ce plan impose la destruction de ces tissus appartenant à des bovins âgés de plus de 6 mois, et ceci, dès septembre 1990.

- 2) Il est possible qu'avant que le recyclage des farines animales n'atteigne l'impact connu, la phase d' "ESB sporadique" de l'épidémie restait presque inaperçue. Ceci peut avoir des répercussions importantes pour des programmes d'épidémiologie d'ESB dans d'autres pays.

Le nombre des cas cliniques d'ESB, dus à une infection sporadique, serait très limité si la période d'incubation est substantiellement plus longue que la durée de vie commerciale moyenne des bovins laitiers. Cette situation peut encore s'aggraver par la manière de nourrir non seulement des animaux âgés, mais également des veaux, comme c'était le cas au RU.

Voilà pourquoi dans de tels pays l'épidémiologie devrait être orientée sur les bêtes les plus âgées possible, qui présentent ou non des symptômes typiques d'ESB. Pour cela on devrait utiliser des techniques telles que l'examen histopathologique du tronc cérébral, l'immunohistochimie, l'analyse par *Western blot*, l'extraction des "*Scrapie Associated Fibrils*" (SAFs) et les nouveaux tests rapides.

3. ASPECTS ÉPIDÉMIOLOGIQUES

3.1. L'épidémie d'encephalopathie spongiforme bovine dans le Royaume-Uni

Depuis les premiers cas d'ESB en 1987 jusqu'au 30 septembre 2001, il y a eu 180.149 cas confirmés d'ESB. Le cours du nombre des cas confirmés d'ESB au RU est le suivant: 1987: 442, 1988: 2.473, 1989: 7.166, 1990: 14.294, 1991: 25.202, 1992: 37.056, 1993: 34.829, 1994: 24.290, 1995 : 14.475, 1996: 8.090, 1997: 4.335, 1998 : 3.197,

1999: 2.281, 2000: 1.428 et 2001: 591. De ceci il apparaît que le nombre

de cas est en train de diminuer et que cette diminution est plus nette à la fin de cette période.

Durant l'épidémie, le pic d'incidence de la maladie se déplace de l'âge de 4 à 6 ans en 1992, à 6 à 8 ans en 95. Ceci est dû au fait qu'à partir de 1992, les bêtes de la catégorie d'âge les plus sensibles étaient nées après le "*Ruminant Protein Feed Ban*" de 18 juillet 1988.

Néanmoins, ce "*Ruminant Protein Feed Ban*" ne pouvait pas stopper toutes les infections immédiatement, car jusqu'au 1 avril 2001, 42.810 veaux nés, après 18 juillet 1988 étaient atteints d'ESB. Ceux-là sont connus sous le nom de "*Born After the Ban's*" (BAB's).

Une partie des BAB's peut, surtout au début, être expliquée par des fuites dans l'application de la nouvelle législation. Par la suite, le "*Ruminant Protein Feed Ban*" et le *SBO ban* se sont améliorés avec l'espoir que le nombre de cas diminuerait.

Chez ces BAB's la transmission horizontale ou maternelle ne peut pas être exclue. Il n'y a cependant aucune indication que quelque chose d'autre que la nourriture puisse être la cause de l'infection. Le 1^{er} août 1996 était considéré comme la date après laquelle on estimait que le nombre de veaux infectés était si bas que ceux-ci pouvaient être vendus sans aucune restriction, à condition que le RU continue à mettre en œuvre les moyens nécessaires pour garantir l'application des SBO et "*Ruminant Protein Feed Ban*". A partir du 1^{er} août, le "*feed ban*" fut considéré comme optimal. Il y a eu quand même six cas d'ESB sur des veaux dits "*Born After the Real Ban*" (BARB's), nés après le 1^{er} août 1996, dont 3 en 1997. Pour expliquer l'apparition de ces cas, l'hypothèse d'une route alternative ou une "troisième route" fut émise, cette hypothèse ouvre les horizons au-delà de la nourriture et transmission maternelle.

L'épidémie d'ESB au RU ne peut sans doute pas être entretenue, puisque depuis l'application du "*Ruminant Protein Feed Ban*" en 1988, le nombre de cas a drastiquement diminué, ce qui est en corrélation avec les trouvailles précédentes qui expliquaient comment les farines animales étaient la cause principale de l'infection.

D'autres sources d'infection ne peuvent pas être exclues, mais ceci ne veut pas impliquer automatiquement que l'épidémie peut s'entretenir comme dans la tremblante.

Car, même s'il était question que la transmission maternelle soit à 100 % efficace, il devrait encore exister une transmission horizontale importante. Des données épidémiologiques montrent que la transmission maternelle n'est pas fréquente (1 à 3 %).

Dans une étude où des veaux provenant de vaches avec ESB et sans ESB étaient suivis, une transmission de maximum 10 % a été constatée, ceci plus particulièrement chez ceux nés 6 mois avant que la mère ait développé l'ESB. De plus, il n'y avait pas d'indication de transmission via le sperme, les ovules, les embryons ou le lait. Toutes les données n'indiquent pas la présence d'une transmission horizontale à haut niveau.

Enfin, il n'y avait pas d'indication non plus, et ceci contrairement à la tremblante, d'une infectivité dans des tissus autres que le système nerveux central (qui pourrait servir de réservoir d'infection éventuel).

En inoculant des moutons expérimentalement avec l'ESB, on a constaté une infectivité présente au niveau de la rate, les amygdales et les nerfs périphériques, et, chez des veaux (infection par voie orale expérimentale) à partir de 6 mois après inoculation au niveau de l'iléon distal.

Néanmoins, le nombre de moyens d'infection lié à d'autres voies que la nourriture ne paraît pas être capable de maintenir l'épidémie et tout porte à croire qu'avec les mesures prises, l'ESB est une maladie dite "dead end". Les prévisions sont les suivantes: l'épidémie pourrait prendre fin en 2002, bien que, et ce, pendant quelques années encore, un nombre limité de cas puisse encore exister.

3.2. L'ENCÉPHALOPATHIE SPONGIFORME BOVINE CHEZ LES BOVINS EN DEHORS DU ROYAUME-UNI

Jusqu'à présent (30 septembre 2001), les cas suivant d'ESB sont détectés en dehors du RU: 738 en Irlande, 2 au Sultanat d'Oman, 1 dans les îles de Falkland, 392 en Suisse, 2 au Liechtenstein, 426 en France, 6 au Danemark, 578 au Portugal, 117 en

Allemagne, 1 au Canada, 66 en Espagne, 34 en Italie, 21 au Pays-Bas, 34 en Italie, 21 au Pays-Bas, 44 en Belgique, 1 au Grand-duché de Luxembourg, 2 en Tsechië, 1 en Grèce et 1 au Japon. La possibilité que quelques-uns d'entre eux soient le résultat, comme supposé au RU, de cas sporadiques d'ESB endémique, ne peut pas être exclue totalement. La majorité des cas d'ESB peut être groupée avec certitude en deux catégories:

- 1) Les cas d'ESB jusqu'au fin 2000 dans les îles de Falkland, 2 en Italie et au Sultanat d'Oman, quelques cas d'ESB en Irlande, un cas au Danemark et les 6 en Allemagne, se produisaient chez des animaux importés du RU et qui étaient contaminés là-bas avant le "*Ruminant Protein Feed Ban*" en 1988;
- 2) Les autres cas en Irlande et Danemark (1), les cas en Suisse, France, Pays-Bas, l'Espagne, l'Allemagne, la Tsechië, le Japon et la Belgique étaient, surtout, causés par les farines animales contaminées provenant directement ou indirectement du RU. Dès l'application des tests rapides le 1^{er} janvier 2001, plusieurs cas semblables ont été retrouvés dans une série d'Etats membres. Ces pratiques commerciales ont duré au moins 2 ans après le "*Ruminant Protein Feed Ban*" de 1988. Les 426 cas suisses d'ESB (données jusqu'au 30/09/2001) pourraient également être liés aux farines animales importées à partir de la Belgique, la France et l'Italie. Tout ceci est une bonne illustration des risques qui continuent à exister tant que le commerce des farines animales entre les Etats membres continue. Pour le moment, seul l'exportation en dehors du RU est interdite;
- 3) En dehors de ces deux possibilités, on ne peut pas exclure une troisième route, et ceci dû au fait qu'il y a un nombre relativement grand dans quelques Etats membres (France, Belgique, RU) et la Suisse, d'animaux nés après l'introduction de l'interdiction des farines animales (*BAB's*).

La confidentialité des chiffres d'incidence doit être liée à la qualité des réseaux d'épidémiologie:

seuls les pays qui, selon l'analyse du risque géographique (CE), répondent à l'attente des normes de qualité, peuvent être traités comme confidentiels.

Pour limiter les cas en dehors du RU au maximum, différentes mesures ont été prises dans l'Union Européenne:

- 1^{er} mars 1994: interdiction de l'exportation des bovins de plus de 6 mois du RU. Ces animaux doivent être abattus dans le pays de destination avant d'avoir atteint l'âge de 6 mois (directive CE 90/59/EEC);
- 27 juin 1994: interdiction de donner à des ruminants des protéines d'origine animales dans toute l'UE (directive CE 1994/381/EC);
- 1^{er} avril 1997: installation de nouveaux standards pour le traitement des déchets provenant de ruminants dans les usines de production (133°C/3bar/20min/100% humidité relative) (directive CE 1996/449/EC);
- 1^{er} octobre 2000: interdiction des matériaux à risque spécifié (SRM) (tête, moelle épinière, iléon) (directive CE 2000/418/EC);
- 1^{er} janvier 2001: application des tests rapides sur les abattages de nécessité et au niveau des clos d'équarrissage, sur tous les animaux âgés de plus de 30 mois destinés à la consommation (directive CE 2000/764/EC). Interdiction totale de farines animales chez les mammifères et la volaille;
- 1^{er} mars 2001: des animaux morts dans les fermes ne peuvent plus être recyclés dans la nourriture d'autres animaux (disposition 2001/25/EC);
- 1^{er} avril 2001: le recyclage de colonne vertébrale de tous les ruminants âgés de plus de 12 mois est interdit (disposition 2001/233/EC);
- 1^{er} juillet 2001: toute la législation européenne concernant la prévention, le contrôle et l'éradication de certaines Encephalopathies Spongiformes Transmissibles ESTs est reprise dans la réglementation 999/2001/EC.

3.3. L' ENCÉPHALOPATHIE SPONGIFORME BOVINE CHEZ D'AUTRES ANIMAUX

Jusqu'à présent, 19 cas d'ESB chez des ruminants sauvages en captivité sont connus, 96 cas chez des chats (dont 1 en Irlande du Nord, 1 en Norvège, 1 en Suisse et 1 au Liechtenstein) et 15 cas chez des félins sauvages en captivité. La même souche bovine d'ESB est, dans tous les cas, responsable de la maladie. Il est à noter que cette souche d'ESB n'a apparemment pas changé durant le passage entre espèce.

Ces données montrent de nouveau que la barrière entre espèce est contrôlée par l'agent, et ceci justifie également que la possibilité doit être considérée que la barrière entre le bovin et l'humain ne doit pas être la même qu'entre le mouton et l'humain. Dans cet ordre d'idées, on peut mentionner que des 256 acides aminés du PrP^c ou le PrP^{res}, il y a 4 différences entre le bovin et le mouton, 26 entre l'humain et le mouton et 25 entre l'humain et le bovin.

Chez le porc, 7 animaux sur 10 infectés intracérébralement, ont développés l'ESB. Après infection per orale, on n'a pas pu trouver des cas d'ESB, même après 7 ans. Ces données ne donnent quand même pas une certitude complète, dû à la possibilité des porteurs latents.

Des moutons paraissent être aussi sensibles que des bovins (voir après).

4. L'ENCÉPHALOPATHIE SPONGIFORME BOVINE ET LES CONSÉQUENCES SUR LA SANTÉ PUBLIQUE

Des études épidémiologiques extensives n'ont pas pu montrer la corrélation entre la tremblante chez le mouton et la maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ) chez l'homme, ce qui illustre la barrière entre espèces très large contre la dispersion de la tremblante du mouton à l'homme.

Néanmoins, avec l'ESB et d'autres ESTs (Encéphalopathies Spongiformes Transmissibles) dans d'autres animaux, il a paru nécessaire de tenir compte du scénario le plus grave, à savoir que le risque d'exposition de l'homme à l'infection par la nourriture est plus grande dans le cas d'ESB

Tableau I : Calcul de la densité infectieuse par gramme de tissu du "Specific Risk Material"

Tissus	Densité infectieuse (DIBo50/g)	Poids (kg) par 537 kg animal	DI50 par cas d'ESB	% de la charge infectieuse par animal	Charge cumulative
Cerveaux	10	0.5	5000	64,1 %	64,1 %
Moelle épinière	10	0.2	2000	25,6 %	89,7 %
Ganglion Trigéminal	10	0.02	200	2,6 %	92,3 %
Ganglion Dorsale	10	0.03	300	3,8 %	96,1 %
Iléon	3.2 ^E -01	0.8	260	3,3 %	99,4 %
Rate	3.2 ^E -02	0.8	26	0,3 %	99,7 %
Yeux	3.2 ^E -02	0.1	3	0,04 %	99,74 %

que dans le cas de la tremblante.

Le *SBO ban* en RU a été conçu pour limiter le au maximum ce risque d'exposition de l'homme et d'autres non-ruminants à l'ESB. Les ruminants sont protégés par le "*Ruminant Protein Feed Ban*". Le *SBO ban* exclut de la chaîne alimentaire humaine et animalière ces tissus qui ont montré des titres d'infectivité les plus élevés de l'ESB et qui, pour cela, jouaient le plus le rôle dans le développement de l'épidémie et avec ceci les cas associés d'EST chez les chats et les animaux des jardins zoologiques. Les tissus interdits dans le RU sont : le cerveau et la moelle épinière (tissus de catégorie I), les intestins, la rate, le thymus et les amygdales (tissus de catégorie II) de tous les bovins âgés de plus de 6 mois. En plus, dès décembre 1997, après la déclaration que les ganglions auprès du colonne vertébrale et la moelle osseuse pourraient être positives, la vente de la viande connectée aux os était interdit.

Pour protéger le consommateur en UE, la disposition du 30 juillet 1997 oblige, malheureusement, d'application depuis juillet 2000 (2000/418/EC), excepté les Etats membres qui ont obtenu une exception en se basant sur l'analyse de risque géographique, la destruction de tous les crânes, cerveaux et yeux inclus, des moelles épinières et amygdales des bovins de plus d'une année, ainsi que des rates de moutons. Dès le 1er avril les colonnes vertébrales des Etats membres avec un risque géographique d'ESB (RGE – GBR) > 1, sont aussi interdites.

Jusqu'à maintenant, on a pu montrer seulement l'infectivité dans les cerveaux, la moelle épinière, les gan-

glions dorsaux et la rétine de l'œil dans des cas cliniques d'ESB chez des bovins. Dans des essais d'infection perorale chez des veaux, on a pu trouver en plus que l'iléon distal était aussi infectieux 6 mois après l'infection. Toute la législation des "*Specific Risk Materials*" (SRM) est basée sur les résultats des essais de pathogénicité chez des bovins infectés. Comme on peut voir dans le tableau I, qu'en excluant le SRM, on peut éliminer de la chaîne alimentaire 99,4 % de la charge infectieuse éventuel de l'animal. Ce calcul de la densité infectieuse par gramme de tissu est basée sur des résultats récentes qui indiquent qu'un veau peut être infecté par 0,1 gramme de tissu cérébral frais (*Dose Infectieuse Bovin* ou DIBo50). Alors, par gramme il y a 10 DIBo50 et dans un bovin complet il y a environ 8000 DIBo50 (Tableau I).

Chez des moutons qui étaient infectés expérimentalement avec l'ESB, il semblait qu'à côté du centre nerveux, la rate était aussi infectieuse et que le PrP^{res} était aussi présent dans une multitude de tissus lymphoïdes et d'autres. Ceci implique que dans un tel cas, l'entièreté du mouton, sauf la laine, doit être considérée comme matériel à risque.

Cela ne veut pas dire qu'il n'y a pas d'infectivité (mais du PrP^{res}) dans d'autres tissus, car les titres en prion responsable de la tremblante aussi bien que ceux en prion responsable de l'ESB sont probablement sous-estimés, s'ils sont mesurés à travers une barrière d'espèce, notamment la souris. Néanmoins, les titres en ESB et en tremblante au niveau des cerveaux et de la moelle épinière sont à peu près équivalents. Au contraire, des

Tableau II : Différentes scénarios d'exposition humaine

Scénario 1 : distribution maximale

Un lot de 5 tonnes de viande récupérée mécaniquement où sont encore présents les matériaux à risque provenant d'un bovin atteint d'ESB peut approximativement exposer 200.000 (par "ravioli") jusqu'à 400.000 (par des préparations) personnes à l'agent. Dans ce scénario chaque consommateur est exposé à une dose moyenne entre 0,023 et 0,043 DIBo₅₀.

Scénario 2 : distribution moyenne

Seuls les cerveaux (700 g) sont utilisés dans la fabrication du pâté ou des saucisses. Ici 280 personnes sont exposées à une moyenne de 25 DIBo₅₀.

Scénario 3 : concentration

7 à 10 personnes mangent chacun 100g de tissu cérébral.
Ils sont exposés chacun à 1000 DIBo₅₀.

titres en ESB au niveau des tissus extra-neuronaux, sont 100 à 1000 fois plus bas que les titres en tremblante.

De plus, l'efficacité de l'infectivité par voie orale de la tremblante est à peu près 100.000 fois moindre que par voie intracérébrale, et 200.000 fois moins dans le cas d'ESB.

L'incidence annuelle des cas classiques de MCJ dans le RU est basse : à peu près 0,7 à 1,04 pour 1.000.000 habitants, avec une variation limitée d'année en année, avec cependant une certaine augmentation les dernières années.

Cette augmentation est probablement liée aux possibilités de diagnostic plus performantes et à l'augmentation de l'attention. Une augmentation comparable est aussi décrite dans les autres états-membres de l'UE, qui ne connaissent pas, ou seulement des cas sporadiques d'ESB.

L'incidence des cas classiques de MCJ est comparable en France, Allemagne, Italie, Pays-Bas et le RU.

Quatre cas de MCJ classique ont été diagnostiqués chez des fermiers élevant des vaches laitières au RU en 1995, chacun d'entre eux avait au moins un cas d'ESB dans son cheptel. Une incidence comparable et haute peut également être constatée chez des fermiers laitiers dans certains Etats membres, où il y a peu ou pas de cas d'ESB signalés. Un tel nombre limité est très difficile à interpréter et peut seulement être considéré comme sporadiques.

Les deux premiers cas au RU de la nouvelle variante de MCJ (v-MCJ)

ont été constatés chez des adolescents âgés entre 16 et 18 ans. On n'a pas pu démontrer l'existence de facteurs de risque spécifique non plus, sauf pour un patient qui avait mangé une fois du cerveau bovin. D'autres pays, entre autre les Pays-Bas, la France, la Pologne, le Canada et les USA ont eu des cas enregistrés de la maladie CJ classique chez des patients âgés de moins de 30 ans.

Entre-temps, il est apparu (dès avril 1996) plus de 110 cas de la nouvelle variante MCJ, avec les caractéristiques suivantes :

- Un nouveau profil neuropathologique avec les lésions principales au niveau du tronc cérébral (voir ESB);
- Une durée d'incubation exceptionnellement courte (16-43 ans); avec seulement un cas de 74 ans;
- Une période clinique particulièrement longue (plus de 2 ans) ;
- L'absence d'un électroencéphalogramme typique de MCJ;
- L'homozygotie du gène codant pour la méthionine sur le codon 129 (voir ESB): la MCJ classique est dans la plupart des cas homozygote pour la valine;
- L'analyse *Western Blot* du PrPsc entraîne une différenciation en quatre types dépendant de la glycosylation du PrP:
 - type 1 (MCJ sporadique)
 - type 2 (MCJ héréditaire)
 - type 3 (MCJ iatrogène)
 - type 4 (v-MCJ: nouvelle variante).

Le type 4 peut aussi être trouvé chez des bovins, des chats, le kudu et des

singes-macaques avec des symptômes d'ESB. Si on transmet à des souris des cerveaux infectés avec l'ESB provenant de différentes espèces, nouvelle variante incluse, on détecte que le même type 4 apparaît chez la souris, indiquant une grande compatibilité entre la v-CJZ et l'ESB. Des essais sur des souris transgéniques, où le gène PrP souris était remplacé ou suppléé par le gène PrP humain, ont montré une sensibilité comparable pour la v-MCJ et l'ESB chez ces animaux.

Néanmoins, le fait que dans le RU, environ 446.000 animaux infectés avant le SBO ban de 1989, et au total 840.000 à 1.250.000 animaux infectés de 1985 à 2001, sont entrés dans la chaîne alimentaire humaine, légitime une certaine inquiétude.

Dans quelle mesure l'ESB va-t-elle causer la maladie chez les humains ? Cela dépendra de plusieurs facteurs, dont pour le moment peu sont connus: la dose infectieuse (ou cumulative ?) nécessaire pour infecter l'homme, la sensibilité génétique (jusqu'à maintenant toutes les victimes sont méthionine homozygote sur le 129 qui encode pour la protéine PrPc), le sexe ou la race, le danger d'animaux en incubation, la possibilité de transmission de la v-MCJ par le sang, ou d'autres sortes de thérapies médicamenteuses. La plupart des modèles montrent que probablement on saura seulement en 2002 si l'épidémie chez l'homme de la nouvelle forme de MCJ commencera au RU. Les estimations varient de quelques dizaines de cas par an à plus de 700.000 victimes, cependant, il reste la possibilité que l'épidémie chez l'homme est en plus grande partie finie.

L'étude du risque d'exposition de l'homme à l'ESB, le soi-disant "*Human Exposure Risk*" (HER), se base sur l'hypothèse que 0,1 g de tissu cérébral infectieux est égal à une dose bovine (DIBo50) et que la charge infectieuse totale d'un bovin adulte est estimée à 8000 DIBo50, d'où 64% se situe au niveau du cerveau, 25,6% dans la moelle épinière, 2,6% dans les ganglions trigémiques et 3,8% dans les ganglions dorsaux. Il en résulte les scénarios suivants. (Tableau II)

Le "*Worst Case Scenario*" concernant l'épidémie chez l'homme, est obtenu avec la proposition que 1 DI50

humaine serait égale à 1 DI50 bovine, soit 0,1 gramme tissu cérébral infectieux bovin. Des données récentes d'expériences de transmission avec v-MCJ et ESB chez des souris transgéniques, indiquent que la barrière bovin-homme est probablement basse (facteur 1 à 10).

D'autre part, il apparaît que l'exclusion des cerveaux, moelle épinière, ganglions trigéminés et dorsaux ainsi que des intestins peut éliminer directement 99,4% de la charge infectieuse totale d'un bovin, et que ceci est une mesure très efficace si on ne peut pas garantir que chaque animal infectieux est exclu de la chaîne alimentaire (voir Analyse du risque géographique d'ESB).

5. ENCÉPHALOPATHIE SPONGIFORME TRANSMISSIBLE CHEZ DES ANIMAUX EN BELGIQUE

La tremblante et l'ESB sont des maladies à déclaration obligatoire en Belgique depuis 1990. Dès mai 1990, un réseau d'épidémiosurveillance d'EST a été installé.

Jusqu'au 31/12/2000 on a trouvé 19 bovins positifs sur 3116 cas suspects en Belgique. Ceux-ci montraient des symptômes suspects d'ESB. Des 9 cas découverts en 2000, 4 étaient nés après l'interdiction des farines animales de juillet 1994. Ceux-ci sont les premiers cas de *BAB's* belges.

Dès l'introduction des tests rapides on a pu trouver en 2001, 25 cas d'ESB dont 20 *BAB's*. Vingt et un de ces 25 cas sont détectés à l'abattoir (à peu près 1 positif sur 10.000 animaux testés), et 4 cas sont des cas avec symptômes.

Au total, en Belgique, 44 cas d'ESB sont déjà observés.

Tous les cerveaux des espèces "autres" analysés (chats, chevreuils, ...) se sont avérés négatifs pour l'EST.

Concernant les moutons: en 1992, 5 cerveaux provenant de la même ferme étaient positifs pour l'EST/la tremblante. Il s'agissait d'une ferme de "Flevoland". Le diagnostic était confirmé chez 5 moutons du même troupeau sur base des signes cliniques, de l'histopathologie et du contrôle de SAFs. Récemment, le même matériel a été confirmé par l'immunohistochimie.

Dans l'arrière-saison de 1997 on a

trouvé dans deux fermes un cas de EST/tremblante. En janvier 1998 dans une autre ferme, et en 1999 dans 10 fermes. En examinant plus profondément ces fermes, on a pu trouver que d'autres moutons étaient atteints.

Jusqu'à 1994, la surveillance de l'ESB était basée sur le diagnostic différentiel avec la rage chez des bovins de plus de 2 ans. Par après, ce protocole a été élargi au niveau de tous les cas de symptômes neurologiques non traitables de bovins de plus de 2 ans. Tous les échantillons suspects ont été examinés en utilisant trois tests: l'histopathologie, le contrôle des SAFs et l'immunohistochimie.

Dès le 1 mai 1997, un nouveau règlement concernant l'analyse pour l'ESB chez les suspicions et diagnostics d'EST de ruminants, impliquant une compensation totale. Si la suspicion était confirmée, toute la ferme, les veaux, le sperme et les embryons produits par l'animal atteint 6 mois avant l'apparition des signes cliniques, sont détruits et complètement dédommagés. Il existe aussi un scénario détaillé de la conduite à suivre lors EST chez les ruminants qui peut être obtenue sur demande chez les Services Vétérinaires.

Dans "*The Commission Decision on epidemiosurveillance for transmissible spongiform encephalopathies and amending Decision 94/474/EC*", il a été estimé qu'un réseau est optimal si au moins 100 animaux avec troubles nerveux, et chez qui on ne peut pas exclure l'EST, sont inclus. Ceci sur base d'une population de 1.000.000 d'animaux âgés de plus de 2 ans. De cette façon, les réseaux de pays différents peuvent être comparés.

Avec à peu près 100 examens par an, la Belgique est proche du chiffre fixé et se situe chez les premiers au classement européen. (Voir: Analyse du risque géographique de l'ESB)

Pour le moment, les réseaux de surveillance en UE sont très divers. Il est estimé statistiquement que, sur base de l'exportation des animaux de reproduction du RU, entre les années 1985-1990 (57.900 bêtes), à peu près 1.700 cas d'ESB devaient se déclarer (pour la Belgique 17 cas). Néanmoins ces statistiques peuvent être mises en question, chaque pays a intérêt à détecter au maximum ses cas suspects pour éviter la critique (et la panique).

Le groupe de travail ESB/EST de l'UE a développé un modèle d'analyse de risque géographique lui permettant d'évaluer le risque pour l'existence et la dispersion de l'ESB au niveau de chaque pays, Belgique incluse, de manière objective (voir plus loin).

Le danger des produits bovins secondaires utilisés dans l'industrie pharmaceutique, la nutrition, les cosmétiques et d'autres secteurs comme l'oléochimie ainsi que l'industrie de production des plastiques est aussi évalué à fond.

6. ENCÉPHALOPATHIE SPONGIFORME BOVINE CHEZ LES MOUTONS

Un autre aspect qui est examiné plus profondément, est le risque d'infection des moutons et chèvres avec l'agent de l'ESB. Jusqu'à présent, il n'y a eu aucun cas naturel d'ESB connu, mais la distinction entre la tremblante et l'ESB est très compliquée. Pour cette différenciation, on utilise certaines espèces de souris que l'on inocule intracérébrale avec du matériel suspect, et, après présentation des signes cliniques, le patron de glycosylation est déterminé par *Western blot*. Si l'ESB chez des moutons est confirmée, et cette possibilité est réelle parce que dans l'analyse de risque, il apparaît que, pour des populations de moutons, l'exposition à des farines animales infectées avant l'interdiction ne peut pas être exclue, il est accepté que ces cas vont se comporter comme des cas de tremblante et qu'il y aura plus d'organes infectés. Il est également estimé que la transmission maternelle (par le placenta) et horizontale serait plus importante. Les conséquences de ceci doivent être considérées comme plus lourdes que pour l'ESB chez le bovin, parce qu'un plus grand nombre de tissus est contagieux, donc la menace concernant la santé publique est plus élevée, et d'autre part, l'extermination de l'ESB chez des moutons sera plus difficile que chez les bovins.

7. L'ANALYSE DU RISQUE GÉOGRAPHIQUE DE L'ENCÉPHALOPATHIE SPONGIFORME BOVINE ("GEOGRAPHICAL BSE RISK" (GBR).

Pour évaluer le risque de l'ESB dans les différents pays d'une façon objective, un modèle est conçu qui évalue fondamentalement deux aspects: le risque de propagation et le risque de recyclage.

- Le risque de propagation est déterminé comme la probabilité de dispersion d'une infection initiale dans une population d'animaux d'une région donnée, pendant une certaine période ;
- Le risque de recyclage est déterminé comme la probabilité que, pendant une certaine période, un animal (ou matériel) infecté entre dans la chaîne alimentaire. Ceci signifie être traité dans un abattoir ou directement dans un clos d'équarrissage pour devenir de la nourriture.

Dans le modèle il est question de 8 facteurs à risque (RF). Chaque RF est alors sous divisé en d'autres facteurs, la stabilité et le challenge de chaque système en rapport avec ce RF est conçu :

- RF1: structure de la population et dynamique des ruminants ;
- RF2: importation et exportation des animaux ;
- RF3: l'alimentation des animaux ;
- RF4: interdiction de l'alimentation par des farines animales ;
- RF5: interdiction de traitement des matériaux à risque spécifié ;
- RF6: surveillance de l'ESB et de la tremblante ;
- RF7: traitement des animaux et la production des aliments de bétail ;
- RF8: la politique d'abattage dans des cas d'ESB et de tremblante.

Sur base des données dans les dossiers des pays on vient à une graduation de 4 niveaux de risque géographique d'ESB ou "*GBR level*", qui détermine la présence de cas cliniques et pré-cliniques dans une certaine entité géographique :

- I = fort improbable ;
- II = improbable mais pas exclu ;
- III = probable mais pas (encore) confirmé ou conforté sur une cote basse (moins de 100 cas/million par an);

IV = confirmé sur une cote plus haute.

A ce moment, déjà 46 pays ont été évalués et il apparaît que l'ESB est devenu un risque mondial, ce qui a été confirmé lors de la réunion NN/FAO/OIE/OMS (au mois de juin 2001 à Paris). En déterminant l'état d'ESB (I, II, III of IV) d'un pays, on inclut aussi l'"*Human Exposure Risk*".

Dans la directive 2000/418/EC, on détermine une liste minimale pour les pays qui ont une cote de II, et pour tous les pays ayant une cote de plus de III. Une liste maximale de "SRM's" pour diminuer proportionnellement le danger pour la santé publique. De plus, dès le 1 avril, la colonne vertébrale doit être éliminée comme SRM, et l'interdiction sur la viande séparée serait d'application. Pour des pays avec niveau GBR I, il n'y a pas de mesures prises.

Une mesure supplémentaire, qui est prise dans tous les pays de cote II ou plus, concerne l'application des tests rapides d'ESB sur certaines catégories d'animaux (clos d'équarrissage, abattages de nécessité et chez tous les animaux âgés de plus de 30 mois abattus pour la consommation). Ceci est basé sur la décision 2000/374/EC. Ces tests ont été validés au niveau européen en utilisant un lot de 1.300 échantillons. Il s'agit de Western blot et d'ELISA qui peuvent être faits à grande échelle. Ils sont effectués sur des tronc cérébraux, et ont une spécificité de 100 % et une sensibilité suffisante. Ces tests peuvent aussi permettre de détecter des animaux infectieux en incubation, jusqu'à 6 mois avant que les signes cliniques ne se manifestent. Dès le 1^{er} janvier 2001, tous les états-membres doivent examiner tous les animaux de plus de 30 mois destinés à la consommation, un certain pourcentage de bovins présentés pour destruction (clos d'équarrissage – RENDAC, Denderleeuw, Flandre Oriental), et tous les animaux pour abattage de nécessité, en utilisant un des tests rapides. Pour la Belgique ceci représente un nombre minimal à RENDAC de 3.000 carcasses. A partir du 1^{er} juillet 2001, dans le cadre de la régulation 999/2001/CE, tous les animaux à RENDAC (\pm 45.000) de plus de 24 mois doivent être examinés (voir disposition CE 2000/764/EEC) en utilisant le test rapide ("*Platelia sandwich ELISA*" – BIORAD). Dès le 1^{er} jan-

vier 2001, on a déjà pu détecter 24 cas d'ESB en utilisant ce protocole.

8. CONCLUSION

L'origine de l'épidémie d'ESB au RU peut être attribuée avec une grande certitude à l'ESB ou par recyclage une seule souche dominante d'ESB bovine qui a été sélectionnée. Celle-ci s'est dispersée très vite du fait de facteurs favorables exceptionnels, entre autre la fourniture de farines animales produites dans des circonstances qui n'ont pas pu inactiver complètement l'agent responsable de l'ESB. Comme prévu, mais avec un délai de quelques années, les mesures prises au RU et au niveau de la CE ont pu repousser le problème. On n'a pas pu éviter cependant les cas de *BAB's*.

La probabilité d'être contaminé par la nourriture au niveau de pays avec un "SBO" ou SRM ban et un risque géographique bas d'ESB, peut être décrite comme minimale. Cependant, les conséquences de l'exposition massale de la population, spécialement au RU et durant la période, pourront seulement être évaluées dans quelques années. En lumière des données scientifiques récentes, la transmissibilité de l'ESB à l'homme est pratiquement prouvée.

De nos jours, les circonstances de transmission, comme la dose et la prédisposition génétique, sont encore inconnues. Alors, une estimation exacte du nombre de cas de v-CJZ ou ESB humaine est très difficile à prévoir.

Si l'ESB est aussi démontrée chez le mouton (porc?), cela pourrait avoir des conséquences graves et ceci, aussi bien pour la santé publique que pour l'élevage de moutons (porcs ?).

Quels tissus seront ajoutés à la liste des matériels à risque spécifique et quelles catégories d'animaux seront ajoutées pour en faire des tests individuels d'ESB/EST, dépendra des résultats des différentes études de pathogenèse qui sont pour le moment en cours chez des bovins, des porcs et des moutons, et de la position des pays individuels concernant son état d'ESB et naturellement de la volonté politique pour y lier les conclusions nécessaires sur le niveau de législation.

Plusieurs éléments du texte en haut sont basés sur 1 des 92 "*Scientific*

opinions" du "EST/BSE ad hoc group of the Scientific Steering Committee of the European Commission".

Ces rapports peuvent être consultés sur l'adresse suivante :

http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/ssc/outcome_en.html#opinions

SUMMARY

Bovine spongiform encephalopathy and variant Creutzfeldt-Jakob disease: some information concerning the origin, diagnosis, epidemiology, risk analysis and future

This manuscript gives an up to date overview of what is known concerning the origin of bovine spongiform encephalopathy and the new variant of Creutzfeldt-Jakob. Additionally, the diagnosis, epidemiology, geographical risk analysis developed by the European Commission and finally the perspectives for the future are described.

BIBLIOGRAPHIE

BARON T.G., BIACABE A.G. Molecular analysis of the abnormal prion protein during coinfection of mice by bovine spongiform encephalopathy and a scrapie agent. *J. Virol.*, 2001, **75**, 107-114.

PRUSINER S.B. Personal letter to the Scientific Steering Committee of the European Commission, August 2, 2000.