

M

aladies à prions

La recherche mobilisée

Inra, la lettre n° 7, juillet 2004

6

Dossier

Les encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles (ESST) sont une préoccupation majeure des chercheurs et des gestionnaires du risque en Europe depuis plus de dix ans. La recherche a été vigoureusement mobilisée et a été en mesure d'apporter des réponses, au moins partielles, aux grandes questions qui lui était adressées.

Les agents des encéphalopathies spongiformes transmissibles sont responsables de maladies neurodégénératives fatales chez l'homme (maladie de Creutzfeldt-Jakob, insomnie fatale familiale, syndrome de Gerstmann-Straussler-Scheinker, Kuru) et chez les animaux (tremblante ovine et caprine, encéphalopathie spongiforme bovine, encéphalopathie spongiforme féline, encéphalopathie transmissible du vison, dépérissement chronique des cervidés).

L'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) est une maladie nouvelle apparue en 1985 au Royaume-Uni. Elle s'est propagée ensuite dans les autres pays européens et en particulier en France. La tremblante des ovins est en revanche connue depuis plus de deux siècles en Europe. L'agent de l'ESB est transmissible des bovins à l'homme chez lequel il provoque une forme particulière (appelé variant) de la maladie de Creutzfeldt-Jakob (vMCJ). En revanche, l'agent de la tremblante ovine semble sans danger pour l'homme. Pourtant, l'émergence potentielle de nouvelles formes de tremblante est une préoccupation importante des chercheurs et des autorités sanitaires. On ne peut exclure en effet que l'agent de l'ESB n'ait contaminé des ovins, ni que certaines formes de tremblante soient capables d'infecter les animaux présumés résistants.

La crise de la « vache folle »

Le premier cas d'ESB a été détecté en France en 1991, à la suite de la mise en place d'un système de surveillance clinique obligatoire fin 1990. En 2000, une étude utilisant un test rapide (de la société suisse Prionics) a été réalisée sur près de 50 000 bovins morts ou euthanasiés pour maladie dans l'ouest de la France. Cette étude a montré que la surveillance clinique seule était insuffisante pour détecter l'ensemble des animaux atteints. A la suite de la deuxième crise de la vache folle (novembre 2000), la France, comme l'ensemble de la Communauté économique européenne, a mis en place un important système de surveillance active fondé sur l'utilisation de tests rapides (Prionics, Bio-rad, Enfer). A partir de janvier 2001, tous les animaux de plus de 30 mois (et plus tard de plus de 24 mois) abattus en vue d'une consommation humaine ont été testés. Enfin, à partir de janvier 2002, c'est la totalité des populations dites « à risque » qui sont, à leur tour, soumises au dépistage.

L'épidémie endiguée

Les données collectées depuis cette période montrent qu'environ 75% des



© CHRISTOPHE MATTE

cas détectés en France le sont par la surveillance active. Depuis 2001, on observe chaque année une diminution du nombre de cas (43 en 2002, 13 en 2003), consécutive vraisemblablement au renforcement des mesures de lutte contre la maladie prises en 1996 et notamment l'interdiction des farines animales pour l'alimentation des ruminants. Depuis le 1^{er} décembre 1990, le réseau clinique a permis de confirmer 333 cas parmi plus de 1500 suspicions, avec un pic en 2000 et 2001 (102 et 91 cas contre 43 en 2002 et 13 en 2003). Plus de 9 millions de tests ont été réalisés dans le cadre de la surveillance active, permettant de détecter 563 cas supplémentaires (60 en 2000, 183 en 2001, 196 en 2002, 124 en 2003).

Face à ces émergences, des systèmes de surveillance et des réglementations ont

Quelques aspects réglementaires

A la lumière d'avis d'expert, les réglementations françaises et européennes ont évolué au cours du temps et ont concerné tous les aspects de la filière.

Pour ce qui concerne l'alimentation du bétail et la commercialisation des produits animaux, il faut retenir l'interdiction d'importer les farines de viande et d'os en provenance du Royaume-Uni (1989), puis l'interdiction totale de l'utilisation de ces farines et de protéines d'origine animale (1990 pour les bovins, 1994 pour tous les ruminants), l'embargo sur les produits d'origine bovine en provenance du Royaume-Uni (1996), l'interdiction de tissus à risque dans l'alimentation humaine (1996), la destruction du cerveau et de la moelle épinière des ruminants adultes (1996), le renforcement des mesures d'interdiction des farines animales (1996)...

Pour ce qui concerne le suivi sanitaire, on notera l'inscription de l'ESB sur la liste des maladies obligatoires en 1990, de la tremblante sur celle des maladies contagieuses (1996), l'obligation de déclaration des suspicions de MCJ (1996) et la mise en place des réseaux de surveillance.

Jusqu'en 2003, l'obligation d'abattage total des troupeaux au sein desquels un cas d'ESB a été détecté, était en vigueur. Depuis, les troupeaux ne sont plus systématiquement détruits. Seules la cohorte de naissance (+1 an et -1 an) du cas et sa descendance sont éliminées.



► été installés. Le réseau national de surveillance des maladies de Creutzfeldt Jakob et maladies apparentées fonctionne depuis 1992. Il distingue différentes formes de MCJ, dont le nouveau variant, qui serait transmis par l'agent de l'ESB. Six cas à ce jour de ce variant ont été détectés en France (1 en 1996, 1 en 2000, 1 en 2001 et 3 en 2002).

La tremblante du mouton

Depuis 1990 la tremblante du mouton faisait l'objet d'épidémiologie-surveillance dans le sud-est de la France. Mais la découverte du variant de la maladie de Creutzfeldt-Jakob vMCJ chez l'homme au Royaume-Uni a précipité la mise en place d'un système de surveillance nationale obligatoire de cette maladie. Un réseau clinique est mis en place en juin 1996 : 328 foyers sont détectés (un foyer pouvant comporter plusieurs cas) et une surveillance active est lancée (103 cas détectés parmi 132 000 tests en 2002 et 2003). Depuis 2002, un programme national de lutte génétique contre la tremblante basé

sur la sélection d'animaux résistant à cette pathologie est coordonné par le ministère en charge de l'Agriculture (encadré).

L'appel à la recherche

Le 20 mars 1996, l'annonce par les autorités du Royaume-Uni que 10 Britanniques venaient de succomber à une variante de la maladie de Creutzfeldt-Jakob liée à l'ESB a entraîné une crise de confiance sans précédent des consommateurs. La communauté scientifique a alors été largement sollicitée ; en France, cela s'est traduit, dès l'automne 1996,

par la mise en place des premiers appels d'offres de recherche. L'observation rétrospective des efforts consentis et des résultats obtenus par les équipes des principaux organismes de recherche (CNRS, Inserm, CEA, Afssa, Inra), montre le succès de cet appel. Par ailleurs

Les résultats de la recherche contribuent à la prise de décision pour la protection de la santé publique

des structures spécifiques ont été créées, aux niveaux national et européen pour institutionnaliser l'expertise (Afssa, Afsaps et INVS en France) et des moyens financiers considérables ont été alloués aux travaux sur les ESST.



La réponse institutionnelle

Sur le plan de l'organisation, la création des agences (Afssa en France et Efsa au niveau européen) a permis une mobilisation d'experts scientifiques de nombreux organismes et disciplines. Nous sommes désormais mieux armés pour collecter les informations et déclencher les expertises (pour l'appréciation des risques et, au-delà, leur gestion). L'institutionnalisation de l'expertise au sein d'agences a également procuré des gages de transparence des avis scientifiques. Elle a fourni à l'expertise des moyens de fonctionnement permettant une relative focalisation des experts sur une problématique scientifique.

Les budgets

Le Gouvernement français a confié à un comité interministériel d'experts puis au GIS « Prions » le soin de financer les équipes de recherche pour un total de 40 millions d'euros. L'Union européenne a financé 54 projets pour un montant de 50,7 millions d'euros de 1996 à 1998, 26 projets pour un montant de 30 millions d'euros entre 1998 et 2002 et 15 projets en 2003 pour un montant de 21 millions d'euros. Un réseau d'excellence consacré aux recherches sur les prions est financé par le 6^e PCRD (programme cadre de recherche et développement) pour un montant de 15 millions d'euros. Depuis 1997, l'Inra a participé et participe à 18 projets qui ont représenté un montant global d'environ 35 millions d'euros.

Encore aujourd'hui, 36 projets sont coordonnés par l'Inra et trois nouveaux pro-



Ovin race Manech



jets soumis à l'appel d'offres 2003 du GIS Prions ont été retenus. L'Inra est impliqué comme coordinateur et/ou comme partenaire dans 18 projets européens depuis 1998.

Les résultats

La mise au point d'outils (Jouy-en-Josas, Tours et Toulouse) constitue une étape initiale déterminante pour mener de nombreux projets de recherches dans de bonnes conditions. Les recherches à l'Inra ont permis de produire :

- des anticorps monoclonaux spécifiques de la protéine prion, susceptibles de nombreuses utilisations ou applications ;
- des modèles animaux (murin, ovine), pour l'inoculation expérimentale dans des conditions très contrôlées ;
- des souris transgéniques rendues beaucoup plus réceptives à l'infection par le prion (incubation plus courte) ;
- des lignées de cultures cellulaires rendues également beaucoup plus sensibles à l'infection in vitro par les prions.

En outre, les principaux résultats concernent la mise au point de protéine prion ovine recombinante, d'approches épidémiologiques adaptées et typage moléculaire à très grande échelle du gène PrP.

Des projets de recherches ont été développés à l'aide de ces outils afin de mieux comprendre la maladie et l'agent qui en est responsable. Ils ont abouti à des résultats qui ont fait l'objet, depuis 1995, de 80 publications scientifiques dans des revues internationales de premier niveau. Enfin, un effort particulièrement conséquent a été fait sur le développement et la mise en commun « d'outils » de recherche et de plate-formes technologiques. Cet

effort concerne la mise en place d'animaux protégés de grandes tailles pouvant héberger des espèces modèles (souris) et agronomiques (encadré).

Les enseignements à tirer de la crise

Afin d'améliorer notre réactivité face aux émergences, plusieurs enseignements peuvent être tirés des récentes crises. Sur le plan scientifique, il est important de renforcer nos compétences en épidémiologie. C'est une discipline indispensable pour évaluer rapidement les conséquences potentielles liées à l'émergence d'une mal-

adie. Elle permet d'étudier l'incidence de la maladie, son évolution dans le temps, sa répartition géographique et d'analyser les facteurs de risque, les sources de contamination.

L'analyse épidémiologique précoce des émergences pathologiques suppose un réseau opérationnel liant acteurs de terrain, pouvoirs publics et scientifiques. Elle repose aussi sur un réseau d'équipes d'épidémiologie spécialisée, maîtrisant parfaitement approche de terrain et modélisation mathématique. En France, les équipes de recherche en épidémiologie

L'éradication de la tremblante ovine

Dès 1991, sollicité par les éleveurs de la race ovine Lacaune dont certains élevages de sélection étaient atteints de tremblante, puis confronté en 1993 à une épidémie spectaculaire de cette pathologie dans un de ses troupeaux ovins expérimentaux, l'Inra développe les recherches sur cette maladie à prions.

Les ovins sont plus ou moins sensibles à la tremblante selon leurs caractéristiques génétiques (ce qui n'a pas été montré pour les bovins face à l'ESB). Avec le soutien de l'Institut de l'élevage et des sélectionneurs, les chercheurs de l'Inra et du GIE Labogena ont exploré cette variabilité génétique de la résistance à la tremblante à partir d'observations réalisées en fermes et dans ses propres domaines expérimentaux. A partir de 1997, les chercheurs ont évalué le degré de sensibilité des animaux à la tremblante pour une trentaine de races ovines. Ils ont alors proposé un plan ambitieux de contrôle et d'éradication de la tremblante dans les troupeaux français. Adopté par la Direction générale de l'Alimentation (ministère en charge de l'Agriculture), ce plan de 5 ans bénéficie d'un soutien financier de 15 millions d'euros. Il repose sur la détection et l'élimination des béliers reconnus génétiquement sensibles à la tremblante et leur remplacement par des béliers reconnus génétiquement résistants. En combinant les démarches génétiques et sanitaires, l'éradication totale de la tremblante ovine en France est une perspective raisonnable pour l'avenir. Des dispositions semblables ont été prises au Royaume-Uni et aux Pays-Bas, et la réglementation européenne prévoit la généralisation de la démarche d'ici quelques années.

Contacts scientifiques :

Jean-Michel Elsen, elsen@toulouse.inra.fr
Francis Barillet, barillet@toulouse.inra.fr



Laboratoire d'études de la tremblante du mouton dans les locaux de l'Inra de Tours.



Recoupe du cerveau d'une souris infectée par la tremblante.

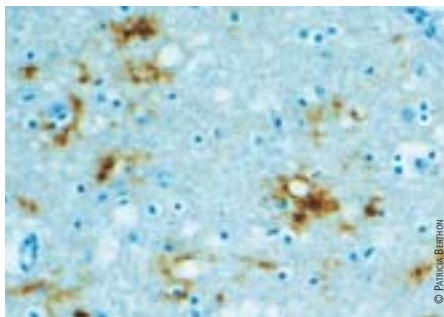


PrP^C : forme cellulaire non pathologique de la protéine prion



PrP^{Sc} : forme scrapie pathologique de la protéine prion

Mise en évidence de la protéine PrP^{Sc} (forme pathologique de la protéine PrP) par immunohistochimie sur coupe de cerveau dépôts bruns de PrP^{Sc} et vacuolisation des prolongements des neurones.



© PATRICK BATHON

► sont peu nombreuses par rapport à celles des pays européens les plus dynamiques en la matière (Royaume-Uni, Pays-Bas, Danemark).

Associer recherche et veille sanitaire

Il convient de faciliter les contacts entre la recherche et la surveillance pour deux raisons majeures :

- rendre compatible l'observation détaillée de cas et la gestion du risque ;
 - profiter des avancées les plus récentes des recherches en matière de diagnostic.
- La crise de l'ESB a été l'occasion d'une prise de conscience de l'importance du lien entre gestionnaire du risque, recherche et expertise, se traduisant par des conventions formelles sur l'échange d'information et de produits biologiques entre la DGAL, l'Inra et l'Afssa.

La surveillance devrait être organisée au minimum au niveau européen (les agents infectieux ne connaissent pas les frontières). C'est dans cet esprit qu'a été constitué le réseau d'excellence du 6^e PCRD, MedVet-Net, coordonné par l'Afssa et regroupant un nombre conséquent d'agences au niveau européen.

Les émergences ou ré-émergences pathologiques restent une constante du paysage sanitaire européen, d'autant plus que celui-ci s'élargit à de nombreux pays de l'Est.

Pour leur faire face, la crise de la vache folle a confirmé que la capacité de réaction était largement dépendante des moyens mis en œuvre et que les liens entretenus et formalisés entre recherche, acteurs de terrain, agence d'expertise et gestionnaires du risque étaient les garants d'une bonne réactivité face aux questions nouvelles posées. ■

D'après un texte de :
Jean-Michel Elsen, directeur scientifique Animal et Produits animaux et Gilles Aumont, chef du département de Santé animale

Pour en savoir plus

- De nombreuses ressources en ligne dans les « dossiers d'information scientifique », rubrique « ESB - Santé animale » <http://www.inra.fr/actualites/DOSSIERS/index>

► Dossier de presse

« Installation nationale protégée pour la recherche sur les encéphalopathies spongiformes transmissibles » <http://www.inra.fr/Internet/Directions/DIC/PRESSE/COMMUNIQUE/a3prionstours/sommaire>

- Site du Courrier de l'environnement de l'Inra, rubrique « la vache folle en ligne » <http://www.inra.fr/Internet/Produits/dpenv/vchfol00.htm>

Une animalerie protégée à Tours pour étudier les maladies à prions

Pour étudier les maladies à prions chez les animaux de rente, les chercheurs doivent travailler simultanément sur les souris, les ovins et les bovins. Le recours aux espèces modèles, la souris notamment, constitue une économie de temps et de moyens considérables. Néanmoins, l'observation directe de l'infection espèce par espèce reste indispensable pour une meilleure compréhension de ces maladies et pour l'évaluation scientifique des moyens de prévention, de diagnostic ou de thérapie.

L'étude expérimentale des maladies à prions requiert des installations protégées de classe 3. A Tours, sur le site Inra de Nouzilly, une animalerie de ce type est en cours de construction et doit s'achever fin 2006. Il s'agira de la plus importante installation de ce type en France capable d'accueillir des gros animaux.

Le principe général de ce type d'installation est d'assurer un contrôle complet de tout ce qui est susceptible d'en sortir (air, échantillons pour analyse, déchets solides, effluents liquides) et de garantir la sécurité des personnels qui y travaillent au moyen de protections adaptées.

Pour atteindre ces objectifs, l'atmosphère à l'intérieur du bâtiment est maintenue en dépression, et les entrées (personnel, animaux, matériels, aliments) se font via des sas étanches. L'air circule donc de l'extérieur vers les sas puis vers la zone confinée, et ne peut ressortir que par un filtre capable d'arrêter tous les microorganismes pathogènes et les poussières.

Les animaux, une fois rentrés dans le bâtiment ne peuvent en ressortir vivants. Les autopsies sont effectuées sur place, les prélèvements de tissus ou d'organes qui doivent être analysés dans des laboratoires extérieurs sortent en emballage sécurisé.

Les déchets solides (carcasses d'animaux, restes d'aliments, déjections solides, litière, petit matériel plastique jetable) sont incinérés sur place et les effluents liquides (lisiers des animaux, eaux usées) subissent un traitement thermique afin d'assurer leur décontamination.

L'ensemble des installations disponibles à Tours sera accessible aux chercheurs des autres équipes de recherche travaillant sur les maladies à prions (AFSSA, CEA, CNRS, Inserm, Institut Pasteur, Ecoles vétérinaires...).

L'investissement s'élève à 9,15 millions d'euros, financés pour moitié par l'Etat (ministère de la Recherche, GIS « Infections à prions »), pour un quart par la Région Centre et pour un quart par le Département d'Indre-et-



© Alain Breter



© Christian S. Krumholz



© P. Fozzy

Contacts scientifiques :

Jean-Michel Elsen, elsen@toulouse.inra.fr

Frédéric Lantier, lantier@tours.inra.fr