

MALADIE DE LA VACHE FOLLE PRIONS & ENCÉPHALITES SPONGIFORMES

Notes complémentaires

Pr Alain GOUDEAU

Avril 2007

I. HISTORIQUE

1732 : premières descriptions de la tremblante/scrapie du mouton en Europe

1755 : pétition en G-B sur les ravages de la scrapie : perte de la laine

1883 : première description de la tremblante du bœuf en France par Sarradet

1920-1921 : première description de la maladie humaine (MCJ) par Hans-Gerhard Creutzfeldt puis Alfons Jakob

1936 : transmission expérimentale de la tremblante au mouton par J. Cuillé et P-L. Chelle en France

1937 : description anatomopathologique des lésions spongiformes

1938 : franchissement de la barrière d'espèce : mouton => chèvre

1945 : épizootie de tremblante due à un vaccin préparé à partir de cerveaux d'animaux contaminés (1500 cas/18 000 moutons vaccinés)

1954-1957 : notion de "maladies lentes à virus" description du Rida (tremblante) et du Visna (Lentivirus) par B. Sigurdsson en Islande

1956 : première description du Kuru (= trembler de peur dans la langue locale) chez les Fore de Nouvelle-Guinée par Gajdusek : ataxie progressive évoluant vers un état grabataire en six mois et une mort inéluctable en 1-2 ans. Les enfants et les femmes sont contaminés car ils mangent le cerveau des ennemis tués alors que les hommes mangent les muscles...

L'incubation du Kuru est au minimum de 4 à 5 ans et en moyenne de 12 ans. Entre 1996 et 2004, onze patients sont encore décédés de Kuru ce qui indique des incubations beaucoup plus longues pouvant dépasser 50 ans !

1956 : analogie entre tremblante et Kuru par le vétérinaire William Hadlow

1961 : transmission expérimentale de la tremblante à la souris par Chandler

1965 : transmission orale accidentelle de la tremblante au vison par l'utilisation de carcasses de moutons malades

1966 : transmission expérimentale du Kuru au chimpanzé par Gajdusek

1971 : transmission orale expérimentale du Kuru et de la MCJ à différents singes du nouveau monde par Gajdusek et Gibbs

1972 : transmission expérimentale de la tremblante à des chèvres par voie orale

1974 : premier cas de MCJ après greffe de cornée

1976 : Carleton Gajdusek prix Nobel

& PETITE HISTOIRE D'UNE CRISE

1981-1982 : UK, suppression de l'extraction par des solvants organiques et de l'inactivation thermique dans la préparation des *farines de viande et d'os* (FVO) utilisées dans l'alimentation du bétail en Grande-Bretagne

1982 : hypothèse du Prion par Prusiner

⇒ **avril 1985**: UK, un vétérinaire du Kent, Colin Whitaker, décrit le premier cas de "mad cow" dans un troupeau de laitières Holstein

novembre 1986 : UK, premier diagnostic officiel d'encéphalite bovine spongiforme (ESB ou BSE en anglais)

octobre 1987 : UK, premier rapport public de 4 troupeaux infectés dans le *Veterinary Records*

décembre 1987 : UK, identification du rôle des FVO britanniques

avril 1988 : UK, les experts britanniques déclarent : " *it is most unlikely that BSE will have any implication on human health*"

juin 1988 : UK, notification de l'ESB obligatoire

⇒ **juillet 1988** : UK, interdiction des FVO pour l'alimentation des bovins

août 1988 : UK, abattage des animaux infectés

⇒ **13 août 1989** : France, interdiction des importations de FVO britanniques pour l'alimentation des bovins, leur utilisation reste autorisée pour les porcs et les volailles

novembre 1989 : UK, interdiction des *matériaux à risque spécifiés (MRS) = rate, amygdales, thymus (ris), intestin, cerveau, moelle épinière* pour l'alimentation humaine : les exportations de MRS britanniques vers la France passent de 326 tonnes en 1987 à 8 173 tonnes en 1994 (au total 47 890 tonnes entre 1988 et 1996 !)

février 1990 : UK, l'ESB est transmissible par voie orale chez la souris

⇒ **février 1990** : France, interdiction des MRS britanniques pour l'alimentation animale. On estime qu'environ 500 000 bovins à divers stades d'incubation sont entrés dans la chaîne alimentaire avant cette date

mars 1990 : UE, interdiction des importations de bovins britanniques âgés de plus de six mois

avril 1990 : UE, notification de l'ESB obligatoire

avril 1990 : UK, interdiction des MRS

mai 1990 : UK, création de la "Creutzfeldt-Jakob surveillance unit" pour surveiller l'épidémiologie de la MCJ. Le ministre de l'agriculture, John Gummer, se déclare très confiant et pose avec sa fille mangeant un hamburger (!)

⇒ **24 juillet 1990** : France (2 ans après la Grande-Bretagne), interdiction des FVO d'origine anglaise pour l'alimentation des bovins, leur utilisation reste autorisée pour les ovins et les porcins

juillet 1990 : UK, soupçons que l'ESB franchit la barrière d'espèce (cas du chat « Max »)

⇒ **septembre 1990** : UK, interdiction des MRS pour l'alimentation animale

⇒ **mars 1991** : France, premier cas d'ESB

août 1992 : UE, interdiction des MRS dans les aliments pour bébés

hiver 92-93 : UK, pic d'incidence de l'ESB : 37 280 cas en 1992

1993 : UK, les premiers 100 000 cas d'ESB

⇒ **1994** : UK, description d'un variant de MCJ chez 6 patients jeunes

juillet 1994 : UK, interdiction des MRS de veau de moins de six mois

juillet 1994 : UE (6 ans après la Grande-Bretagne), interdiction des FVO pour l'alimentation des bovins

⇒ **décembre 1994** : UK, interdiction des FVO pour l'alimentation de tous les animaux

1995 : UK, premiers décès dus au variant de MCJ

⇒ **février 1996 : UK, preuves que l'ESB franchit la barrière d'espèce (chat)**

13 mars 1996 : UK, premières preuves d'une liaison entre le variant de MCJ humain et l'ESB

20 mars 1996 : UK, publication de 14 cas de variants de MCJ. Le ministre de la santé confirme que les 10 premiers décès sont liés à une consommation d'abats avant 1986. Le ministre de l'agriculture, Douglas Hogg, déclare : "*British beef can be eaten with confidence*"

⇒ **21 mars 1996 : France, embargo sur la viande britannique**

27 mars 1996 : UE, embargo sur les bovins vivants, la viande bovine et tous les dérivés d'origine britannique

avril 1996 : France, publication du premier cas humain à Lyon

avril 1996 : France, interdiction pour l'alimentation humaine des MRS de bovins nés avant l'interdiction des FVO

avril 1996 : UK, interdiction totale des bovins de >30 mois et des têtes de bovins de >6 mois

mai 1996 : UE, refus de lever l'embargo. Le premier ministre, John Major menace l'Europe de "non-coopération"

juin 1996 : France, interdiction de la consommation des cervelles et moelles des ovins et caprins de > 1 an

⇒ **juin 1996 : France, interdiction des MRS pour l'alimentation des volailles et des porcs**

⇒ **juillet 1996 : France, interdiction des cadavres et organes à risque pour la préparation de FVO destinés à l'alimentation des volailles et des porcs**

février 1997 : France, étiquetage des bovins

avril 1997 : l'agent infectieux est transporté par les lymphocytes vers le système nerveux périphérique puis le cerveau

juillet 1997 : UE, directive sur la fabrication des aliments pour bétail (chauffage 20 min à 133°C sous 3 bars)

15 septembre 1997 : France, exclusion du don de sang des sujets transfusés ou greffés

octobre 1997 : Stanley Prusiner prix Nobel

octobre 1997 : Moira Bruce démontre que l'ESB est transmissible à l'homme

novembre 1997 : UK, les yeux d'une patiente, Marion Hamilton, décédée de MCJ ont été utilisés pour des greffes. Une enquête sur les dons d'organes est déclenchée

3 décembre 1997 : UK, l'agent infectieux est présent dans la moelle épinière et peut-être dans la moelle osseuse => interdiction de la consommation des viandes à l'os (T-bone, ox tail)

1986-97 : UK, 2 millions de têtes de bétail abattus

janvier : France, élimination systématique des MRS bovins

1er avril 1998 : France, dé-leucocytation des produits sanguins labiles

juin 1998 : UK, des moutons britanniques sont contaminés par l'agent de la BSE

1999 : Suisse, dépistage de l'ESB chez les bovins dans les abattoirs

1er août 1999 : UE, levée de l'embargo sur le bœuf britannique (viande désossée d'animaux âgés de 6 à 30 mois et provenant d'élevages indemnes d'ESB depuis plus de six mois). **La France qui ne s'associe pas à cette mesure** est menacée d'un embargo de représailles sur les produits alimentaires d'origine française

17 août 1999 : USA & Canada, exclusion des donneurs de sang ayant séjourné plus de 6 mois en Grande-Bretagne dans la période s'étendant du 1 janvier 1980 au 31 décembre 1996

février 2000 : France, création d'une banque de données nationale sur le cheptel : « pas de vache sans passeport »

14 février 2000 : France, une « vache folle » dans un abattoir !

juin 2000 : UE, décision de mener un programme de dépistage dans les abattoirs à travers l'Europe.

8 juin 2000 : France, début du dépistage de 48 000 bovins dans les abattoirs

juillet 2000 : France, interdiction de l'iléon bovin en charcuterie

juillet 2000 : UE, interdiction des MRS ovins, caprins et bovins

juillet 2000 : UK, 5 cas humains (19-24 ans) dans le village de Queniborough (2000 h)

octobre 2000 : France, interdiction de l'ensemble de l'intestin bovin en charcuterie

novembre 2000 : France, de nombreuses mairies suspendent l'utilisation de la viande bovine dans les cantines scolaires dont Tours

novembre 2000 : UE, plusieurs pays (Autriche, Espagne, Italie, Portugal) décrètent un

embargo de la viande bovine d'origine française

⇒ **14 novembre 2000** : France, interdiction des FVO, des plumes, de sang et de volailles pour l'ensemble de l'alimentation animale

4 décembre 2000 : UE :

- interdiction des FVO pour l'ensemble de l'alimentation animale
- dépistage obligatoire de l'ESB chez tous les bovins âgés de > 30 mois
- levée des embargos concernant la viande bovine d'origine française

décembre 2000 : France, 32 tests positifs sur les 15 000 premiers réalisés (2,1%) depuis mai 2000 dont une prévalence élevée chez des bovins nés entre 1993 et 1995 (animaux Nés Après l'Interdiction des Farines [NAIFS])

décembre 2000 : France,

- MRS retirés de la chaîne alimentaire quelque soit l'âge des bovins : rate, amygdales, thymus (ris), intestin
- MRS retirés de la chaîne alimentaire pour les bovins > 12 mois : cervelle, moelle épinière et parage des morceaux pour éliminer la présence d'os vertébral

21 décembre 2000 : UE, l'Autriche décrète un embargo de la viande bovine d'origine allemande

⇒ **22 décembre 2000** : France, ouverture par le parquet de Paris, d'une information contre X pour les deux premiers cas humains d'ESB.

1^{er} janvier 2001 : France, dépistage obligatoire de l'ESB chez tous les bovins âgés de > 30 mois mis en place en urgence. Les autres pays (Espagne, par exemple) de l'UE sont en difficulté pour appliquer cette mesure.

janvier 2001 : Allemagne, démission des ministres de la Santé et de l'Agriculture en raison de leur gestion de la crise de l'ESB

2002 : UE, étiquetage indiquant l'origine de la viande

2002 : France, abattage sélectif, les bovins nés après le 1 janvier 2002 sont épargnés

2002 : Allemagne, France, Italie, dépistage obligatoire de l'ESB chez tous les bovins âgés de > 24 mois

été 2002 : France, premiers cas de tremblante dans les élevages de chèvres en Dordogne, dans le Lot, en Vienne et surtout dans les Deux-Sèvres. Les autorités hésitent entre un abattage systématique comme pour les bovins (arrêté du 15 mars 2002) ou un abattage sélectif des animaux âgés, nés avant 1998 (le troupeau caprin français, le 3^{ème} en Europe, compte 1,2 millions d'animaux).

⇒ **juillet 2002** : France, décision de lever l'embargo sur les bovins anglais

printemps 2003 : Canada, 1^{er} cas d'ESB dans la province d'Alberta

octobre 2003 : France, mise en œuvre de l'abattage systématique en cas de tremblante chez la chèvre. Grand émoi dans le Poitou-Charentes.

23 octobre 2003 : France, la Cour de justice de la République décide d'instruire la plainte déposée le 22 janvier par l'avocat de 5 victimes de la forme humaine de la maladie pour « homicide involontaire ». Quatre anciens ministres (1988-1997) sont concernés : Henri Nallet, Louis Mermaz, Jean Puech et Philippe Vasseur

9 décembre 2003 : USA, 1^{er} cas d'ESB dans l'état de Washington (les FAO y sont interdites depuis 1997)

septembre 2005 : France, décision de renvoyer devant les tribunaux les responsables des contaminations par l'hormone de croissance

mai 2006: France, le bœuf britannique revient... sur le bout des pattes

II. MALADIE DE LA VACHE FOLLE ÉPIDÉMIOLOGIE

- Vaches atteintes :

environ 182 000 cas en Grande-Bretagne fin 2006 (> 35 000 fermes touchées) dont plus de 25 000 bovins nés après l'interdiction des suppléments (225 cas en 2005, 114 cas en 2006).

En Grande-Bretagne près de 900 000 animaux infectés seraient entrés dans la chaîne alimentaire(!)

≈ 5600 cas dans le reste de l'Europe dont :

≈ 1600 cas en Irlande, ≈ 1000 au Portugal, ≈ 650 en Espagne, ≈ 500 en Suisse, ...

≈ 984 cas d'ESB autochtones en France à la fin 2006, dans 63 départements sur un troupeau de 21,5 millions de bovins.

- Dont 374 ESB cliniques de 1987 à 2006 :

Début de l'épidémie relativement lent : moins de 90 cas avant 2000. Pic de l'épidémie en 2000 (101 cas) et 2001 (91 cas) dont un certain nombre chez des animaux élevés uniquement avec une alimentation végétale. Une centaine d'animaux infectés auraient été abattus et consommés en 2000.

333 cas confirmés sur 1500 suspicions survenus chez des animaux Nés Après l'Interdiction des Farines (NAIFS) pour la filière bovine en 1990 :

Un premier cas dit super-NAIF (bovins nés après l'interdiction totale pour toutes les filières en 1996) observé en avril 2001.

- diminution régulière 2004 (54 cas), 2005 (31 cas) et 2006 (8 cas).

- Dont environ 300 contaminations détectées par le dépistage systématique en abattoir et le dépistage ciblé des bovins à risque :

60 en 2000, 183 en 2001, 198 en 2002, 124 en 2003...

1987-2002 => Région Centre : 9 cas / Indre-et-Loire : 1 cas en 2001, 2 en 2002 (1 en juin au Lycée agricole de Fondettes!).

1987-2001 => Région Pays-de-Loire: 32 cas

1987-2001 => Région Poitou-Charentes : 82 cas

Premiers cas sporadiques autochtones en Espagne et en Allemagne apparus en novembre 2000.

Cas d'importation au Canada, en Irlande, Allemagne, Portugal, Italie, Danemark, Iles Malouines, Oman...

- Transmission naturelle à diverses espèces :

ovidés/bovidés : algazelle, bison, éland du Cap, gemsbok, grand koudou, mouflon, moutons du Vermont, nyala, oryx d'Arabie...

félinés (87 cas juin 2000): chat domestique (premier cas en 1990), guépard, lion, ocelot, puma, tigre

primates : macaques rhésus, lémurs

III. CLINIQUE des ENCÉPHALOPATHIES SPONGIFORMES SUBAIGUËS TRANSMISSIBLES (ESST)

Définition :

- incubation longue
- perte de substance nerveuse
- vacuoles dans la substance grise et dans les neurones (spongiose)
- issue toujours fatale

III.1. Les ESST animales

Tremblante du mouton

- atteints les moutons & chèvres entre 3 et 4 ans
- troubles du comportement: excitation, somnolence, l'animal se mord et se gratte
- ataxie et tremblement
- mort en 6 sem à 6 mois
- au Royaume-Uni : 4000 cas par an sur un cheptel de 40 millions de têtes
- en France: 328 foyers détectés depuis juin 1996

Encéphalopathie Spongiforme Bovine (ESB) :

- incubation moyenne 5 ans
- troubles du comportement (agressivité)
- troubles locomoteurs de plus en plus invalidants

Maladie du dépérissement chronique de l'élan (aux USA, à la frontière Wyoming/Colorado : 1% des élans, 6-15% des cerfs)

Encéphalopathie transmissible du vison (origine => ATNC ovin ou bovin ?)

III.2. La Maladie de CREUTZFELDT-JAKOB

Quatre formes :

- MCJ sporadiques : 90-95% (≈1,5 cas/millions en France soit ≈ 85 cas/an)
âge moyen de début: 60 ans (avant 1996: 4 cas connus <30 ans)
démence d'installation subaiguë: asthénie pendant 1-2 mois - déficit intellectuel - syndrome pyramidal et/ou extra-pyramidal-myoclonies
ataxie cérébelleuse - troubles visuels évoluant vers un mutisme akinétique en une dizaine de semaines
EEG présentant des anomalies périodiques lentes (1,5 Hz)
dans le LCR : énoïase neuronale ou NSE / protéine 14-3-3
le reste de la biologie normal, scanner et IRM : atrophie banale
décès inéluctable en 6 mois en moyenne
- MCJ génétiques : 5-10%
deux syndromes cliniques rares s'en rapprochent :
- la maladie de Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS)
maladie familiale autosomique dominante de la 3^{ème} décennie
> ataxie cérébelleuse => démence (évolution jusqu'à 50 mois)
- l'Insomnie fatale familiale (IFF) très rare (~20 cas dans le monde)

- MCJ iatrogènes : près de 400 cas dans le monde
 - dont 141 cas après injection d'extraits d'hypophyse de cadavre (en France : 105 décès de 1991 à fin 2006, sur 968 enfants exposés entre le 1^{er} janvier 1984 et le 1^{er} avril 1985). L'hormone est produite par génie génétique depuis 1987.
 - dont 3 cas après greffes de cornée
 - dont 130 cas au Japon après greffes de dure-mère...
 - dont ≈ 6-10 cas par inoculations accidentelles, etc...
- MCJ-variant humain (v-MCJ)

Caractéristiques du MCJ-variant :

âge moyen : 26 ans [14-74]

incubation 10-16 ans

lésions : spongiose, raréfaction neuronale, astrocytose prédominantes dans le noyau caudé, le thalamus et le putamen

+ plaques fibrillaires dans tout l'encéphale et le cervelet

présence de PrPsc dans les organes lymphoïdes des patients atteints de nv-MJC alors qu'elle est absente dans le cas de MCJ classique.

décès inéluctable en 7-22 mois (en moyenne en 14 mois)

Épidémiologie:

. **165 cas certains ou probables en Grande-Bretagne au 2 avril 2007**, dont 6 seulement sont encore en vie (sex ratio H/F: 54%)

UK MCJ décédées	MCJ Sporadiques	MCJ Génétiques	MCJ Iatrogènes dont HGH	v-MCJ	Total MCJ
1990	28	0	5	0	33
1991	32	3	1	0	36
1992	45	6	2	0	53
1993	37	5	4	0	46
1994	53	7	1	0	61
1995	35	5	4	3	47
1996	40	6	4	10	60
1997	60	5	6	10	81
1998	63	5	3	18	89
1999	62	2	6	15	85
2000	50	3	1	28	82
2001	58	5	4	20	87

2002	72	5	0	17	94
2003	79	6	5	18	108
2004	51	5	2	9	67
2005	65	13	3	5	86
2006	57	9	1	5	72
	787	90	52	158	1187

. 22 malades en France au 2 avril 2007 dont un en Touraine ; 2 patients survivants diagnostiqués en 2006 et 2007.

FRANCE MCJ décédées	MCJ Sporadiques	MCJ Génétiques	MCJ Hormone Croissance	MCJ Iatrogènes divers	v-MCJ	Total MCJ
1992	38	4	7	2	0	51
1993	35	7	12	1	0	55
1994	46	7	5	3	0	61
1995	59	6	8	1	0	74
1996	68	10	10	0	1	89
1997	80	4	6	1	0	91
1998	81	13	8	1	0	103
1999	92	5	8	0	0	105
2000	87	8	9	0	1	105
2001	110	15	5	0	1	131
2002	108	13	2	2	3	128
2003	108	10	8	1	0	127
2004	97	9	8	0	2	116
2005	82	10	4	1	6	103
2006	116	6	5	0	6	133
	1207	127	105	13	20	1472

. 1 cas au Canada, 1 cas à Hong-Kong, 1 cas en Irlande, 1 cas en Italie, 1 cas aux USA

Origine de l'infection humaine : Le lien entre l'ESB et le v-MCJ a été établi à partir de quatre arguments :

- coïncidence épidémiologiques en Grande-Bretagne
- transmission de l'ESB au singe après inoculation intra-cérébrale
- profil électrophorétique du prion du v-MCJ identique à celui de l'ESB
- v-MCJ et ESB donnent des signes cliniques identiques chez la souris

L'origine alimentaire de la contamination est probable sans que les modalités de la transmission aient été élucidées (portage sain, pénétrance variable?). 98% des animaux infectés sont des vaches laitières (donc + âgées) qui représentent 40% de la consommation de viande bovine en France. Dans l'"épidémie" de Queniborough (5 cas âgés de 19 à 24 ans), une association avec quatre bouchers locaux et des pratiques d'abattage traditionnelles (le "jonglage" qui utilise une tige munie d'un lasso pour couper la moelle épinière, le fracassage du crâne pour extraire le cerveau) a été avancé par les épidémiologistes britanniques.

La transmission de v-MCJ par la transfusion de produits sanguins labiles (CGR non déleucocytés) est bien établie avec eux cas britanniques. Elle fait l'objet de mesures spécifiques d'éviction : exclusion depuis 1997, des donneurs ayant été transfusés, exclusion depuis 2001, des donneurs ayant séjourné plus de 12 mois dans les îles britanniques entre 1980 et 1996, déleucocytation...

IV. ÉTIOLOGIE

IV.1. L'hypothèse du PRION

Le matériel infectieux trouvé dans les dépôts amyloïdes et dans les fibrilles de la tremblante contient :

- 4 filaments de 4-6 nm Ø en hélice mesurant 27-34 nm
- 2 filaments de 4-6 nm Ø en hélice mesurant 40-100 nm

constitués d'une protéine de 27-30 kDa qui à elle seule est responsable de l'infection expérimentale => hypothèse du PRION

proteinaceous infectious particle : PRION => PrP : Prion protein

• PrP^c (PrP^{sen}) :

Protéine normale codée par un gène *PRNP* situé, chez l'homme, sur le bras court (p12-pter) du chromosome 20 : un exon E1 de 134 pb - **un intron de 12 696 pb** - un exon E2 de 2355 pb). Ce gène est ubiquitaire et très conservé. Il est présent chez les mammifères (gène *Prnp* sur le chromosome 2 chez la souris), les nématodes, les insectes... La protéine est exprimée dans la plupart des tissus avec une expression plus importante dans le cerveau.

La PrP^c est une sialoglycoprotéine de 253 aa (33-35 kDa) très hydrophobe et fixant le cuivre avec, à l'extrémité C-terminale, 3 hélices α et 2 courts feuilletts β formant une structure globulaire et une queue protéique flexible à l'extrémité N-terminale (résidus 23 à 120).

résidus 1-22 : peptide signal

résidus 51-90 : répétition d'un octapeptide P(Q/H)GGG(G/-)WGQ, domaine de liaison de 4 à 6 atomes de cuivre

résidus 111-112 : site de clivage

résidus 111-134 : domaine très hydrophobe

résidus 128-131 et 161-164 : 2 feuilletts β

résidus 144-156, 172-193 et 200-227 : 3 hélices α

résidus 179 et 214 : 2 cystéines formant un pont S-S

résidus 183 et 199 : *Asn* sites de N-glycosylation

résidus 231-253 : peptide signal hydrophobe

résidus 231 après clivage du peptide signal: ancre glycosyl-phosphatinylinositol sialylée

structure 3D connue depuis 1997

sensible aux protéases (1/2 vie 6-8h)

concentration 1mg/g de cellules

liée à la membrane cellulaire

Rôle (?) :

- Chez la souris, l'expression du gène *Prnp* varie au cours du développement avec une augmentation à partir du 10^{ème} jour embryonnaire.
- la PrP^c possède 6 sites de liaisons du cuivre et pourrait réguler ce métal, co-facteur de plusieurs protéines neuronales (SOD, MAO) impliquées dans les mécanismes de défense cellulaire contre le stress oxydant.
- la PrP^c pourrait être impliquée dans la signalisation cellulaire en modulant la phosphorylation de la kinase *Fyn*.

- la PrP^c pourrait être internalisée par l'intermédiaire du récepteur de la laminine (LRP) abondant dans les tissus lymphoïdes.
- la PrP^c est augmentée dans diverses pathologies neurodégénératives : augmentation dans les plaques séniles et dans les neurites dystrophiques des patients atteints de maladie d'Alzheimer.
- souris PrP (-) : pas de résultats clairs évoquant un fonction vitale

- **PrP^{sc} (PrP^{res})** : protéine anormale insoluble dans les détergents et plus résistante à la protéinase K. Après digestion de la PrP^{sc} persistance d'un produit de clivage PrP 27-30

attachement à la membrane cellulaire même après digestion de l'ancre glypiée par la phospholipase PI-PLC

passage de PrP^c à PrP^{sc} par conversion d'hélices α en feuillets plissés β (de $\alpha/\beta \approx 43\%/3\%$ à $\alpha/\beta \approx 34\%/43\%$). L'homologie PrP^c/PrP^{sc} et la formation d'un dimère est essentielle à la transformation

résistance aux protéases (vie longue)
concentration 10 mg/g de cellules
s'accumule dans le cytoplasme

Agent très résistant notamment :

- aux détergents
- au glutaraldéhyde, au formol, à l'éther, à l'alcool iodé, au phénol...
- à la chaleur sèche (180°C / 24h - 320°C / 1h!), au froid, à la dessiccation
- aux ultrasons, aux UV, aux radiations ionisantes

Destruction par

- la chaleur humide 134-136°C pendant 18 min
- la soude 1N pendant 1h
- l'urée 8M
- l'hypochlorite de Na à 2,5% (eau de Javel) pendant 1h

IV.2. L'hypothèse du VIRINO

En Janvier 1997 un travail français publié dans la revue Science suggère la transmission expérimentale de la maladie chez la souris en l'absence de la protéine PrP . D'où l'hypothèse de l'existence d'un agent infectieux d'un type nouveau, **le virino**, composé d'un acide nucléique auto-répliquatif associé à des protéines et lipides de l'hôte et n'induisant pas de réponses immunes.

V. TRANSMISSION EXPÉRIMENTALE de L'ESB

V.1. chez la souris

Premiers essais : inoculation intracérébrale de la souris en 1988 (incubation 300-350 jours). Efficacité moindre de la voie orale confirmée en 1990 (> 50% du poids corporel)

- souris chim. souris/hamster : PrP^{sc} de hamster => PrP^{sc} de hamster
PrP^{sc} de souris => PrP^{sc} de souris
- souris + PrP humaine : PrP^{sc} humaine => sensibilité inchangée
- souris + PrP humaine : PrP^{sc} bovin => PrP^{sc} de souris et sensibilité inchangée
- souris chim. souris/homme : PrP^{sc} humain => sensibilité augmentée
- souris PrP (-) knock-out : PrP^{sc} de souris => insensible
- souris PrP-P102L : spontanément malade

- souris transfectées PrP bov. : v-MJC PrP^{sc} => malades en 110j.
- souris transfectées PrP hum. : v-MJC PrP^{sc} => malades en 550-650j.

Infectiosité des tissus et fluides biologiques dans la transmission de l'ESB :

	Phase préclinique	Phase clinique
Catégorie I Élevée	œil	cerveau moelle épinière, dure-mère
Catégorie II Moyenne	ganglions lymphatiques rate, amygdales iléon, côlon	ganglions lymphatiques rate, amygdales intestin du duodénum au rectum hypophyse, LCR surrénales, utérus, placenta, tissus foetaux.
Catégorie II Faible	thymus nerfs périphériques	thymus, muqueuse nasale, nerfs périphériques moelle osseuse foie, poumons, pancréas
Catégorie IV Non détectée :		muscles squelettiques, cœur, reins lait, colostrum, glande mammaire thyroïde, glandes salivaires, salive ovaires et testicules, glandes séminales, tissus cartilagineux et conjonctifs, peau, poils, caillots sanguins, sérum, urines, bile, fécès.

En comparaison :

Infectiosité relative des tissus et fluides biologiques dans la transmission expérimentale de la tremblante (DGS/DH n°100):

Catégorie I ($\geq 10^8$ DL50/g) : cerveau, moelle épinière, hypophyse, œil, dure-mère

Catégorie II ($\leq 10^{5,5}$ DL50/g) : rate, ganglions lymphatiques, amygdales, plaques de Peyer de l'iléon et du côlon proximal

Catégorie IIIa ($\leq 10^4$ DL50/g) : nerfs périphériques, plaques de Peyer du côlon distal, surrénales, muqueuse nasale

Catégorie IIIb ($\leq 10^{2,5}$ DL50/g) : LCR, sang, thymus, moelle osseuse, foie, poumon, pancréas

Catégorie IVa (< 10 DL50/g) : lait, colostrum, glande mammaire, muscles, cœur, reins, thyroïde, glandes salivaires, salive, ovaires, utérus, testicules, vésicules séminales, fécès, peau, tendon

Catégorie IVb (infectiosité non détectable) : sérum et liquides acellulaires, poils, suint, gélatine, caséine...

V.2. par voie orale dans les autres espèces

≤ 14 DL50/tonne de supplément alimentaire

$\leq 0,5$ g de cerveau bovin => voie orale au mouton et à la chèvre

$\leq 0,6$ g de cerveau bovin => voie orale au vison

≤ 1 g de cerveau bovin => voie orale à la vache

résistance du porc à la contamination par voie orale ?

V.3. chez le microcèbe murin (lémurien)

05g de cerveau par voie orale (équivalent de 500g pour un homme de 70kg)

- à sept mois : prions dans les structures digestives et lymphoïdes alors que le cerveau n'est pas encore atteint :

prion par voie orale => système lympho-réticulaire du tractus digestif => rate, ganglions => plexus, nerfs périphériques => bulbe rachidien

VI. GÉNÉTIQUE

- MCJ sporadiques : prédisposition par l'homozygotie Met/Met au codon 129 (40% de la population française normale/70% des MCJ) et de l'homozygotie Val/Val (10% /20%) au lieu de l'hétérozygotie Met/Val (50% /15%).
- MCJ génétiques : mutations aux codons 178 Pro=>Arg et 200 Ac Glu=>Lys (deux foyers en Slovaquie et chez les juifs lybiens)
- Maladie de Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS) : mutations aux codons 102 (> ataxie), 117 (> démence), 105, 145, 198, 217...
- Insomnie fatale familiale (IFF) : mutations au codon 178.
- variant humain nv-MCJ : pas de mutation mais 100% homozygotie Met/Met au codon 129. Il existe une crainte concernant des mutations associées à des incubations plus longues que celles observées dans les premiers cas...

VII. DIAGNOSTIC

- EEG
- Lésions : spongiose, raréfaction neuronale, astrocytose, plaques fibrillaires
- Dosage de protéines, marqueurs de lésions neuronales mais non liées au prion :

 énolase neuronale ou NSE dans le LCR (1992)

 protéine 14-3-3 dans le LCR (1996)

 protéine Tau dans le LCR (1997)

 protéine S-100 dans le LCR (1997)

L'augmentation rapide de la concentration de la protéine 14-3-3 est un indicateur d'une mort neuronale intense comme celle observée lors des MCJ sporadiques (sensibilité : 45-95% / spécificité : 95%). La protéine 14-3-3 est également élevée dans les AVC, les encéphalites herpétiques, certaines formes d'épilepsie... En revanche, ce marqueur n'est présent que dans seulement 50% des cas de v-MCJ.

Problèmes de sensibilité et de spécificité des autres dosages qui peuvent être normaux dans des MCJ sporadique ou anormaux dans d'autres pathologies (maladie d'Alzheimer par exemple).

- Typage des différentes formes de PrP^{sc} (MCJ, v-MCJ, BSE) après Western-blot :
 % de espèces di- mono- et non glycosylées

poids moléculaire apparent des espèces déglycosylées après digestion par la protéinase K

=> type 4 typique des v-MCJ (di- >>monoglycosylés)

- Dépistage des différentes formes de PrP^{Sc} dans le sang à l'aide d'Ac Mo (Conformation Dependant Immunoassay - CDIA) développé par J. Safar et S. Prusiner. Un test analogue chez Avantis.
- Test d'amplification (Protein Misfolding Cyclic Amplification -PMCA) développé par C. Soto qui utilise la transformation *in-vitro* de PrP^C par un extrait de tissus suspects. Plusieurs cycles amplifient la quantité de protéine transformée.

VIII. THÉRAPEUTIQUE

- La Quinacrine (antipaludéen) a été expérimentée par Stanley Prusiner dans un modèle de cellules de neuroblastome de souris infectées par le prion de souris. Il obtient une diminution substantielle de la concentration de protéines pathologiques. Une ATU est en cours depuis le 17 août 2001.
- Les dérivés cycliques tétrapyrroles (familles des porphyrines de l'hémoglobine ou de la chlorophille) en particulier le tétrasulfonate de phthalocyanine, montre une activité *in vitro* (inactivation d'inoculum infectieux) et *in vivo* (protection) dans un modèle expérimental souris.
- Une nouvelle voie vient d'être ouverte avec l'utilisation d'anticorps monoclonaux (notamment spécifiques des aa 97-106 et 132-156 de la PrP) qui bloquent la réplication du prion en cultures cellulaires. D'autres AcMo de régions similaires utilisés précocement (7 à 30j) après une inoculation intrapéritonéale expérimentale chez la souris diminue de manière nette le taux de PrP^{sc} dans la rate des animaux. Ils sont sans effet en cas d'inoculation intracérébrale ou s'ils sont administrés tardivement, au moment de l'apparition des signes cliniques.

IX. MESURES DE PRÉVENTION EN FRANCE

- ⇒ **13 août 1989** : France, interdiction des importations des farines de viande et d'os (FVO) britanniques pour l'alimentation des bovins et ovins, leur utilisation reste autorisée pour les porcs et les volailles
- ⇒ **24 juillet 1990** : France (2 ans après la Grande-Bretagne), interdiction des FVO pour l'alimentation des bovins, leur utilisation reste autorisée pour les ovins et les porcins
- ⇒ **juin-juillet 1996** : France (2 ans après la Grande-Bretagne), interdiction des MRS pour l'alimentation des volailles et des porcs
- ⇒ **14 novembre 2000** : France, interdiction des FVO, des plumes, de sang et de volailles pour l'ensemble de l'alimentation animale

- **Abattage** de tout le cheptel au contact d'un animal malade (près de 900 bêtes abattues en 2000) mais nombreux portages asymptomatiques (en Suisse en 1999 : 24 cas dépistés en abattoir chez des animaux supposés sains contre 25 cas dépistés sur les signes cliniques).
- Mise en route d'un **dépistage** chez 48 500 bovins dans les abattoirs en mai 2000 (32 cas dépistés/15 000 tests [2,1%] au 31 décembre 2000). Le test utilisé (Prionics, Suisse) permet un diagnostic en 6h en détectant la protéine anormale PrPres (res : résistante à la protéolyse) sur l'animal abattu. Il a un seuil de sensibilité relativement élevé ($\geq 10^3$ unités infectieuses).

Le 1^{er} janvier 2001, le dépistage devient obligatoire chez tous les bovins âgés de > 30 mois entrant à l'abattoir. Treize premiers laboratoires sont agréés dont le Laboratoire de Touraine pour les départements 37, 41, 45, une trentaine de laboratoires devraient être agréés à terme. En 2002, le dépistage systématique est élargi à tous les bovins âgés de > 24 mois entrant à l'abattoir. En 2003, 75% des cas détectés le sont par la surveillance active

Le test CEA/Biorad (ELISA anti-PrP) en évaluation, serait 30 fois plus sensible (<< 1 DL50 chez la souris/0,5 mg de tissu cérébral bovin soit un seuil d'environ 0,033 mg) que le test Prionics et permettrait un dépistage sur l'animal vivant sans faux négatif. Débat sur l'extension à tout le cheptel (8 millions de têtes par an en France, 1,6 millions exportées ayant généré un solde positif de 7,2 milliards de francs).

- Mise en route d'un **stockage des FVO** (farines 276 000 t. et graisses 56 900 t. animales) en vue de leur destruction par **incinération** dans les cimenteries dans 22 sites (stockage à Châtillon/Thouet [79] et incinération à raison de 76 000 t./an dans l'usine Inova-Rhodia à Melle [79] pour l'Indre-et-Loire). Le coût prévu pour l'Europe est de 3 milliards d'euros/an pour la destruction et 1,5 milliards d'euros/an de manque à gagner pour cette filière industrielle qui disparaît *de facto*.
- En France, le 21/1/2001, création d'un Groupement d'Intérêt Scientifique (**GIS**) « Infections à Prions » pour coordonner les recherches sur le sujet avec un budget total de 40 millions d'euros.
- A Tours, création le 11/02/2001 (opérationnelle en 2004) à l'INRA de Nouzilly d'une **Plateforme inter-organisme d'animalerie à prions** sur 3000m² (30 bovins, 200 moutons, 6000 souris...9,14 millions d'euros).
- L'Union Européenne finance par ailleurs de nombreux projets de recherche : 54 pour 50,7 millions d'euros entre 1996 et 1998 ; 26 pour 30 millions d'euros entre 1998 et 2002 ; 15 pour 21 millions d'euros en 2003...

X. TEXTES RÉGLEMENTAIRES

Circulaire DGS/DH n° 100 du 11/12/1995 : Précautions en milieu chirurgical

Circulaire DGS n° 277 du 19/4/1996 : Surveillance des cas humains

Circulaire DGS/DH n° 138 du 14/03/2001

XI. BIBLIOGRAPHIE SOMMAIRE

- articles de synthèse

en français :

Quand les vaches deviennent folles.

Rajnachapel-Messaï J., Biofutur, Juillet/Aout 1991, 38-43.

Les encéphalites spongiformes de la "vache folle à l'homme".

Dormont D. et al., La Recherche, n°242 : 446-453, avril 1992.

“To be or not to be “ : le mystère des prions.

Cesbron J-Y. et al., Méd/Thérapeutique, **1** : 57-63, 1995.

La transmission des agents transmissibles non conventionnels.

Dormont D. et al., Méd. Mal. Infect., **26** : 455-464, 1996.

Vache folle : quel risque pour l'homme?.

Brugère-Picoux J., Biofutur, **156** : 29-32, 1996.

Les maladies à prions : l'hypothèse de la "protéine seule" et ses conséquences dynamiques. Laurent M., Méd/Science, **12** : 774-785, 1996.

Le rôle de la protéine du prion dans les encéphalites spongiformes transmissibles humaines. Lehmann S., Méd/Science, **12** : 949-958, 1996.

Problèmes de santé publique et caractéristiques cliniques et neuropathologiques de la nouvelle variante de la maladie de Creutzfeldt-Jakob et d'autres encéphalopathies spongiformes transmissibles humaines et animales : Mémoire sur deux réunions de l'OMS. Anonyme, Bull. Org. Mond. Santé, **74** : 561-572, 1996.

Le lien entre encéphalite spongiforme bovine et le nouveau variant de la maladie de Creutzfeldt-Jakob., Kahn A., Méd/Science, **13** : 62-64, 1997.

L'agent secret des maladies à prions.

Lasmézas C-I. et al., La Recherche, n°299 : 46-53, juin 1997.

La vache folle : une crise annoncée.

Chamak B., Pour la Science, n°256 : 12-16, février 1999.

Nouveau variant de la maladie de Creutzfeldt-Jakob : quoi de neuf ?

Gil N., Eurosurveillance, **5** : 89-100, 2000.

Le prion à la ville et au champ. Bons N.

Brugère-Picoux J., La Recherche, n°332 : 46-51, juin 2000.

Épidémiologie de la maladie de Creutzfeldt-Jakob cinq ans après l'émergence du nouveau variant., Alperovitch A., Méd/Thérapeutique, **6** : 648-652, 2000.

Les maladies à prions.

Dormont D., Méd/Thérapeutique, **6** : 837-841, 2000.

Les maladies de Creutzfeldt-Jakob et les maladies apparentées en France, de 1998 à 2000. Bull. Épidémiol. Hebd., n°28, 141-143, 2002.

Nouveaux aspects de la biologie de la protéine prion.

Mangé A., Lehmann S., Méd/Sciences, **18** : 1267-1275, 2002.

Les maladies de Creutzfeldt-Jakob et les maladies apparentées en France, de 1998 à 2000., dans Surveillance des maladies infectieuses 1998-2000. Institut national de veille sanitaire, pp 219-223, 2003.

L'épidémiosurveillance de l'encéphalopathie spongiforme bovine et de la tremblante en France., dans Surveillance des maladies infectieuses 1998-2000. Institut national de veille sanitaire, pp 225-229, 2003.

Les maladies de Creutzfeldt-Jakob et les maladies apparentées en France en 2001. Bull. Épidémiol. Hebd., n°12, 45-46, 2004.

Les maladies à prions : les risques pour l'homme. Mouthon F., Desly J-P., Pour la Science, n°325 : 44-49, novembre 2004.

Les tests de détection de la maladie de la vache folle. Prusiner S., Pour la Science, n°325 : 50-55, novembre 2004.

Point de vue épidémiologique sur l'encéphalopathie spongiforme bovine au Royaume Uni en France. La Bonnardière C., Ducrot C., Virologie, 9 : 301-314, 2005. 2004.

en anglais :

Bovine spongiform encephalopathy : epidemiological factors associated with the emergence of an important new animal pathogen in Great Britain.

Wilesmith J.W., Sem. Virol., 5 : 178- 187, 1994.

Prion diseases of humans and animals. Prusiner S. B., Sem. Virol., 7 : 159-173, 1996.

Deadly conformations - protein misfolding in prion disease. Horwich A. L., Cell, 89 : 499-510, 1997.

BSE : a decade on. Collee J.G., Bradley R., Lancet, part I : 349 : 636-641; part II : 349 : 715-721, 1997.

Prions diseases and the BSE crisis. Prusiner S. B., Science, 278 : 245-251, 1997

Prions research :the next frontiers. Aguzzi A., Weissmann C., Nature, 389 : 795-798, 1997.

BSE and prions : uncertainties about the agent. Chesebro B., Science, 279 : 42-43, 1998.

Understanding transmission of prion diseases. Manson J.C., Trends Microbiol., 7 : 465-467, 1999.

The state of the Prion. Weissmann., Nature Rev Microbiol, 2 : 861-871.2004.

Variant Creutzfeldt-Jakob disease and the acquired and transmissible spongiform encephalopathies. Beisel C .E., Morens D.M., Clin Infect Dis, 38 : 697-704, 2004.

The origin of bovine spongiform encephalopathy : the human prion disease hypothesis. Colchester A.C.F., Colchester N.T.H., Lancet, 366 : 856-861, 2005.

Prions and their lethal journey to the brain. Mabbott N.A., MacPherson G.G., Nature Rev Microbiol, 4 : 201-211.2006.

Pathogenesis of prion diseases : current status and future outlook. Aguzzi A., Heikenwalder M., Nature Rev Microbiol, 4 : 765-775.2006.

The expanding universe of prion disease. Watts J.C., Balachandran A., Westaway D. PloS Pathog, 2 e26 : 152-163.2006.

- articles clefs

Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. Prusiner S.B., Science, **216** : 136-144, 1982.

Normal host protein necessary for scrapie-induced neurotoxicity. Brandner S. et al., Nature, **379** : 339-343, 1996.

A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the UK., Will R.G. et al., Lancet, **347** : 921-925, 1996.

Molecular analysis of prion strain variation and the aetiology of "new variant". Collinge J. et al., Nature, **383** : 685-690, 1996.

Molecular assessment of the potential transmissibilities of BSE and scrapie to humans. Raymond G.J. et al., Nature, **388** : 285-288, 1997.

Transmission to mice indicate that "new variant" CJD is caused by the BSE agent. Bruce M.E. et al., Nature, **389** : 498-501, 1997.

Predicted vCJD mortality in Great Britain. Ghani A.C. et al., Nature, **406** : 583-584, 2000.

Reversion of prion protein conformational changes by synthetic β -sheet breaker peptides. Soto C. et al., Lancet, **355** : 192-197, 2000.

Binding of disease-associated prion protein to plasminogen. Fisher M.B. et al., Nature, **408** : 479, 2000.

Antibodies inhibit prion propagation and clear cells culture of prion infectivity. Peretz D. et al., Nature, **412** : 739-743, 2001.

Prophylactic and therapeutic effects of phthalocyanine tetrasulfonate in scrapie-infected mice. Priola S.A. et al., J. Infect. Dis., **188** : 699-705, 2003.

Monoclonal antibodies inhibit prion replication and delay the development of prion disease. White A.R. et al., Nature, **422** : 80-83, 2003.

Highly bovine spongiform encephalopathy-sensitive transgenic mice, confirm the essential restriction of infectivity to the nervous system in clinically diseases cattle. Buschmann A., Groschup M.H., J. Infect. Dis., **192** : 934-942, 2005.

The most infectious prion protein particles. Silveira J.R. et al., Nature, **437** : 257-261, 2005.

Prion protein remodelling confers an immediate phenotypic switch. Satpute-Krishnan P., Serio T.R., Nature, **437** : 262-265, 2005.

XI. SITES @

<http://www.who.int/> : épidémiologie maladie humaine monde

<http://www.oie.int/> : épidémiologie maladie animale monde

<http://www.invs.sante.fr/> : épidémiologie maladie humaine France

<http://www.gnn.gov.uk/> : épidémiologie maladie humaine UK
et sur Google « Prion , BSE, CJD...»

RÉSUMÉ DES MESURES DE PRÉVENTION PRISES EN EUROPE

	UK	France	UE
interdiction des FVO pour à l'alimentation des bovins	juil 1988		
interdiction des FVO britanniques pour l'alimentation des bovins		août 1989	
interdiction des FVO pour l'alimentation des bovins		juil 1990	
interdiction des FVO pour l'ensemble de l'alimentation animale	déc 1994		
interdiction des FVO pour à l'alimentation des volailles et des porcs		juil 1996	
interdiction des FVO pour l'ensemble de l'alimentation animale		nov 2000	
interdiction des FVO pour l'ensemble de l'alimentation animale			déc 2000
interdiction des MRS pour l'alimentation humaine	nov 1989		
interdiction des MRS britanniques pour l'alimentation animale			fév 1990
interdiction des MRS pour l'alimentation animale	sept 1990		
interdiction des MRS dans les aliments pour bébés			août 1992
interdiction des MRS pour l'alimentation humaine		avril 1996	
interdiction des MRS pour l'alimentation des volailles et des porcs		juin 1996	
interdiction des MRS ovins, caprins et bovins			juil 2000
interdiction des importations de bovins britanniques âgés de plus de six mois			mars 1990
embargo sur la viande britannique		mars 1996	
embargo sur les bovins vivants et la viande bovine d'origine britannique			mars 1996
interdiction des bovins de >30 mois et des têtes de bovins de >6 mois	avril 1996		
levée de l'embargo sur le bœuf britannique (sauf la France)			août 1999 :
embargo sur la viande bovine d'origine française (Au, Esp, Ita, Port)			nov 2000
levée de l'embargo sur les bovins anglais		juillet 2002	