



AGENCE FRANÇAISE
DE SÉCURITÉ SANITAIRE
DES ALIMENTS

Maisons-Alfort, le 14 avril 2010

AVIS

de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à une demande de synthèse des éléments disponibles concernant l'infectiosité des tissus des ruminants

LE DIRECTEUR GÉNÉRAL

1. RAPPEL DE LA SAISINE

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 29 avril 2009 par la Direction générale de l'alimentation (DGAL) d'une demande de synthèse des éléments scientifiques concernant l'infectiosité des tissus des ruminants.

2. CONTEXTE

Un grand nombre d'avis de l'Afssa, notamment ceux relatifs aux matériels à risque spécifié et aux risques d'exposition liés à la consommation de certains produits animaux sont fondés sur les données disponibles quant à la distribution des agents infectieux responsables des EST (infectiosité) ou de son marqueur la protéine PrP anormale (PrP^{Sc}) dans les tissus d'animaux naturellement ou expérimentalement exposés.

La distribution de l'infectiosité et de la protéine PrP anormale dans les tissus des animaux en incubation ou cliniquement atteints par une EST peut varier en fonction de l'espèce hôte (et ses éventuels facteurs de sensibilité génétique lié au gène de la PrP) et de l'agent impliqué.

Face à la complexité des données disponibles, l'Afssa a été saisie par la DGAL afin d'établir un document récapitulatif la nature des tissus, organes ou produits chez les différentes espèces de ruminants domestiques dans lesquels la présence de prion a été rapportée. Idéalement ce document doit tenir compte de :

- i) la nature de l'agent des EST impliqué,
- ii) du génotype PRNP (gène de la PrP) de l'hôte (dans les espèces pour lesquelles cette information est pertinente).

Dans la mesure où ces données sont disponibles, l'âge à partir duquel les tissus ou différents produits ont été décrits comme positifs ainsi que les niveaux d'infectiosité en jeu seront précisés.

27-31, avenue
du Général Leclerc
94701

Maisons-Alfort cedex
Tel 01 49 77 13 50
Fax 01 49 77 26 13
www.afssa.fr

REPUBLIQUE
FRANÇAISE

3. METHODE D'EXPERTISE

L'expertise collective a été réalisée par le Comité d'experts spécialisés (CES) « ESST » réuni le 30 juin 2009, le 1^{er} octobre 2009, le 14 janvier 2010, le 16 février 2010 et le 19 mars 2010.

Cet avis se fonde sur l'examen de la littérature scientifique ainsi que des données non encore publiées. Le Comité a, par ailleurs, pris en compte la synthèse de l'infectiosité des tissus réalisée par l'OMS en 2006 et actualisé en 2010¹.

4. ARGUMENTAIRE

L'argumentaire de l'Afssa est fondé sur l'avis du Comité d'experts spécialisé «ESST» dont les éléments sont présentés ci-dessous :

4.1. Préambule

Les études relatives à la pathogénèse des maladies à prion et à la dissémination de l'agent infectieux dans l'organisme des hôtes reposent essentiellement sur deux approches :

-la première fait appel à la détection immunochimique de la protéine prion anormale (PrP^{Sc}) dans les tissus des individus atteints (Western Blot, ELISA ou Immunohistochimie), méthode dont la sensibilité a énormément progressé au cours de la dernière décennie.

-la seconde fait appel à la mise en évidence de l'infectiosité par bioessais (broyat du tissu considéré et inoculation à l'animal). Durant plus de 40 ans, ces bioessais ont été pratiqués sur des lignées de souris congéniques. Cependant la capacité de propagation des prions est limitée par la barrière d'espèce. Ainsi, certains isolats pourtant fortement infectieux dans l'espèce d'origine ne peuvent être transmis à ces modèles de souris (Hadlow *et al.*, 1982). Pour les autres isolats, c'est la capacité de détection de faibles niveaux d'infectiosité qui sera affectée par l'utilisation de ce type de souris conventionnelles. Le développement récent de modèles de souris transgéniques pour le gène PRNP de différentes espèces (ovins, bovins, porc...) a permis de dépasser cette limite. Toutefois, la capacité de ces modèles à détecter de très faibles niveaux d'infectiosité amène à s'interroger sur la pertinence biologique des données obtenues. Les niveaux d'infectiosité observés (et les risques d'expositions) sont alors à mettre en perspective avec ceux engendrés par les tissus les plus infectieux (en général l'encéphale).

Il convient également d'indiquer que des discordances sont parfois observées entre accumulation de PrP^{Sc} et présence d'infectiosité. Ces discordances peuvent dans certains cas (notamment en matière de tremblante atypique) relever d'un simple défaut de sensibilité des méthodes immunochimiques. Dans d'autres cas, elles semblent liées à une dissociation entre les formes de PrP résistantes à la protéinase K (qui sont la cible des méthodes immunochimiques) et l'infectiosité (Lasmézas *et al.*, 1997).

Par ailleurs, une partie importante des données auxquelles le Comité fait référence a été obtenue dans le contexte d'inoculations expérimentales parfois réalisées avec de fortes doses. De telles conditions d'exposition doivent être considérées comme des conditions d'exposition extrêmes, peu probables dans le contexte d'une exposition naturelle. Par conséquent, l'utilisation de ces données doit se faire avec prudence.

Enfin, la distribution de l'infectiosité chez les animaux atteints est susceptible d'être étendue à des tissus en principe négatifs (*e.g.* mamelle) lorsque la pathologie se développe dans des conditions

¹ Guidelines on tissue infectivity distribution in transmissible spongiform encephalopathies, World Health Organization, updated 2010.

inflammatoires particulières, telles que les mammites (Heikenwalder *et al.*, 2005, Ligios *et al.*, 2005).

4.2. Les EST chez les bovins (Cf annexe 1).

A ce jour, 3 formes d'EST bovines ont été décrites. Il s'agit de l'ESB classique et de 2 formes atypiques caractérisées dans les 5 dernières années, l'ESB-L et l'ESB-H (Casalone C *et al.*, 2004; Biacabe A.G. *et al.*, 2004). Du fait de leur récente mise en évidence, il existe extrêmement peu de données sur les formes atypiques d'ESB en termes d'infectiosité des tissus d'animaux atteints. Notons toutefois que les études de transmission expérimentale (bovin, primate, souris conventionnelles ou transgéniques) suggèrent un potentiel infectieux important pour l'ESB-L (Lombardi *et al.*, 2008, Beringue *et al.*, 2007 et 2008, Comoy *et al.*, 2008, Kong 2008, Capobianco *et al.*, 2007). Par ailleurs, des données non publiées indiquent la présence d'infectiosité dans le muscle squelettique de bovins atteints d'ESB-L (Suardi *et al.*, 2009).

Pour ce qui concerne l'ESB classique, les données disponibles proviennent à la fois d'études d'inoculation expérimentale de bovins par voie orale et de mesure d'infectiosité de tissus sur des bovins naturellement atteints. Les principaux résultats concernant la cinétique d'apparition de l'infectiosité ou de son marqueur associé (la PrP^{Sc}) ont été initialement établis grâce à l'étude de bovins expérimentalement infectés par ingestion de 100 g (par animal) de tronc cérébral issu de bovins infectés au stade terminal (Wells *et al.*, 1998 ; Grassi *et al.*, 2001 ; Terry *et al.*, 2003 ; Wells *et al.*, 2005). Alors que les signes cliniques de la maladie apparaissaient à partir de 36 mois dans cette expérience, l'infectiosité était détectée par inoculation à la souris sauvage RIII dans le système nerveux central à partir de 32 mois, dans l'iléon distal de 6 à 18 mois et après 36 mois, ainsi que dans l'amygdale palatine à 10 mois. Cette première base de résultats avait fait en particulier l'objet d'un avis du Comité Scientifique Directeur le 8 novembre 2002. Plus récemment, certaines études sont venues préciser ces résultats, soit à partir d'autres études de transmission expérimentale chez les bovins, soit à l'aide de nouveaux modèles de détection de l'infectiosité, avec en particulier l'utilisation de souris transgéniques exprimant la protéine prion bovine.

4.2.1. Etudes longitudinales

L'infection expérimentale par voie orale de bovins par 100 g ou par 1 g de tronc cérébral de bovins atteints d'ESB a permis d'établir une comparaison du délai d'apparition de la protéine prion pathologique en fonction de la période d'incubation (Arnold *et al.*, 2007). Notons que l'infection expérimentale avec 1g d'inoculum reflète mieux la situation de la maladie naturelle dans la mesure où elle est associée à une durée moyenne d'incubation de 5 ans. Dans ces expériences, les animaux ont été sacrifiés à divers stades de la période d'incubation et la présence de PrP^{Sc} a été recherchée par différentes méthodes (Western blot, test ELISA ou immunohistochimie). Cette étude a été complétée par des expériences de bioessais sur des souris conventionnelles (Arnold *et al.*, 2009).

Ces travaux ont permis d'estimer que pour la moitié des animaux expérimentalement infectés,

- avec 1g : la PrP^{Sc} serait détectable dans la région de l'obex 1,7 mois avant l'apparition des signes cliniques (soit à 97% de la période d'incubation).
- avec 100g : la PrP^{Sc} serait détectable dans la région de l'obex 9,6 mois avant l'apparition des signes cliniques (soit à 79% de la période d'incubation).

Ces données suggèrent que, dans les conditions naturelles de contamination, la probabilité de détecter de la PrP^{Sc} au niveau de l'obex est restreinte aux 6 mois qui précèdent l'apparition des signes cliniques.

Pour le groupe de bovins infectés par 1 g de tissu, il n'existe pas de différence de délai de détection de la PrP^{Sc} entre le cerveau et la moelle épinière. En revanche, pour les bovins infectés par 100 g de tissu, la détection de la PrP^{Sc} serait la plus probable d'abord dans l'obex. Un mois plus tard, en

moyenne, elle serait détectée dans la moelle épinière et thoracique ou 1,3 mois plus tard dans la mésencéphale et la moelle épinière lombaire.

Chez ces bovins, tandis que la PrP^{Sc} est occasionnellement détectée en pré-clinique dans les ganglions rachidiens et stellaires, elle n'est détectée que de façon irrégulière dans les nerfs périphériques et dans la glande surrénale et uniquement chez les bovins présentant des signes cliniques confirmés. La détection de la PrP^{Sc} dans les ganglions trijumeaux et rachidiens dorsaux apparaît très tardive au cours de l'incubation, et plus tardive en région cervicale qu'en région thoracique (Arnold *et al.*, 2007). Elle est contemporaine ou postérieure à la détection dans les niveaux de moelle épinière correspondants. Ces données sont en accord avec une étude réalisée chez des bovins naturellement atteints d'ESB qui rapporte la détection de PrP^{Sc} par Western blot, avec une intensité variable selon les individus, dans les ganglions rachidiens dorsaux cervicaux et thoraciques, le ganglion trijumeau, la glande surrénale, les nerfs vague, splanchniques et sciatiques (Masujin *et al.*, 2007). Rapportés à la situation de la maladie naturelle, ces résultats suggèrent que si l'animal est infecté dans les 6 premiers mois de vie, la PrP^{Sc} ne serait détectable dans le système nerveux central et les ganglions rachidiens dorsaux dans la majorité des animaux qu'au terme d'environ 42 à 48 mois.

En parallèle de ces travaux, une étude a été réalisée sur deux animaux expérimentalement infectés par 100 g de tronc cérébral de bovins atteints d'ESB et sacrifiés à 24 et 28 mois en l'absence de signes cliniques (Hoffmann *et al.*, 2007). Ces animaux correspondent aux délais les plus courts d'apparition de la PrP^{Sc} détectable au niveau de l'obex après infection expérimentale par voie orale à forte dose, un délai de 32 mois ayant été observé dans les expériences similaires réalisées au Royaume-Uni. Au niveau du système nerveux, la PrP^{Sc} est détectée dans le noyau dorsal du nerf vague et, chez le seul animal sacrifié à 24 mois, dans le complexe ganglionnaire mésentérique et cœliaque et le ganglion mésentérique caudal, ainsi que dans la substance intermédiaire centrale et latérale de la moelle épinière. Elle n'est détectée dans aucun des nerfs périphériques examinés, ni dans la rate, les ganglions lymphatiques ou la moelle osseuse.

Enfin, l'infectiosité éventuelle de la moelle osseuse a été récemment réévaluée par inoculation de moelle sternale à des bovins (100 mg / bovin par voie intra-cérébrale), issue de bovins infectés expérimentalement par voie orale et sacrifiés à 22, 26, 32 et 36 mois post infection (Sohn HJ *et al.*, 2009). Ces expériences n'ont pas permis de détecter d'infectiosité.

4.2.2. Quantifications de niveaux d'infectiosité

Des expériences de bioessais chez des souris sauvages RIII inoculées par des tissus issus de bovins infectés par 100 g de troncs cérébraux de bovins atteints d'ESB (Arnold *et al.*, 2009) ont permis d'estimer :

- la vitesse d'accroissement de l'infectiosité dans le système nerveux central : le temps de doublement de l'infectiosité est estimé en moyenne à 1,2 mois (IC 95% 1,1-1,4 mois), plus court que préalablement supposé.
- les titres infectieux dans les ganglions rachidiens dorsaux, plus faibles que dans le système nerveux central : entre 32 et 40 mois, pour les ganglions thoraciques et cervicaux les titres sont plus faibles respectivement de 1 et 1,5 log₁₀ DI₅₀souris i.c./i.p². par gramme que les titres du système nerveux central (Arnold *et al.*, 2009).
- l'évolution des titres infectieux au niveau de l'iléon distal : ils sont les plus élevés à 14 et 18 mois, estimés (1,59 et 1,58 log₁₀ DI₅₀/g souris i.c./i.p.) à des niveaux comparables à ceux du système nerveux central six mois avant l'apparition clinique de la maladie. Ces titres infectieux diminuent au delà de 36 mois en relation possible avec l'involution du tissu lymphoïde.

Une autre étude fondée sur le bioessai dans une lignée de souris transgéniques bovines (Tgbov XV) a été menée pour évaluer l'infectiosité à partir de tissus provenant d'un bovin naturellement atteint d'ESB (Buschmann *et al.*, 2005) ; la lignée transgénique bovine utilisée a été estimée dans

² Dose infectieuse induisant la mort de 50% des souris inoculées par voie intracérébrale et intrapéritonéale

cette étude 10 000 fois plus sensible que la souris sauvage RIII et 10 fois plus sensible que les bovins pour la détection de l'agent de l'ESB. L'infectiosité est détectée dans le tronc cérébral, la moelle épinière thoracique ou lombaire, la rétine et le nerf optique, les nerfs facial et sciatique, ainsi que dans l'iléon distal (par comparaison au bioessai chez la souris RIII, qui ne permettait pas de révéler d'infectiosité dans certains de ces tissus comme les nerfs optique, facial et sciatique, ainsi que l'iléon distal). En revanche, l'infectiosité reste indétectable chez les souris transgéniques bovines dans la rate, les amygdales palatines, le ganglion mésentérique, ou dans le colostrum. Il est à noter qu'une souris (1/10) a développé la maladie suite à l'inoculation de muscle semi-tendineux (mais aucune suite à l'inoculation de muscle long dorsal).

Par bioessai, dans une autre lignée de souris transgéniques bovines (Tg110) à partir des tissus issus de bovins sacrifiés séquentiellement à l'issue d'une infection expérimentale par voie orale avec une dose individuelle de 100 g (Espinosa *et al.*, 2007), l'infectiosité est détectée dans le nerf sciatique à 30 et 33 mois, tandis qu'elle l'est dans le tronc cérébral, d'abord de façon limitée à 27 ou 30 mois, puis augmentant fortement à 33 mois ; à partir de ces mêmes tissus, l'infectiosité n'avait été détectée dans le tronc cérébral qu'à partir de 32 mois par bioessais chez la souris sauvage RIII. L'infectiosité est également détectée dans les plaques de Peyer de l'iléon distal et les amygdales palatines dès 20 mois et jusqu'à 33 mois après l'infection expérimentale, représentant l'ensemble de la période d'incubation examinée. Aucune infectiosité n'a, en revanche, été détectée dans la rate, le muscle squelettique, le sang ou les urines dans cette expérience.

Enfin, rappelons pour mémoire qu'une étude réalisée sur du lait de bovins atteints d'ESB (inoculation expérimentale par voie orale avec 100 g ou 1 g d'inoculum) n'a pas permis de mettre en évidence de protéine prion anormale par des méthodes biochimiques (Everest *et al.*, 2006).

Par ailleurs, la recherche de l'infectiosité s'est révélée négative par bioessai sur bovins (homogénat de tissus issus de bovins sacrifiés de façon périodique après contamination par voie orale, inoculés ensuite à des bovins par voie intracérébrale) pour certains tissus tels que le thymus, la rate, le foie, les poumons, les ganglions lymphatiques, la peau, les glandes salivaires, le « buffy coat³ », les nerfs périphériques. En effet, les bovins inoculés avec des homogénats réalisés à partir de ces tissus étaient toujours exempts de signes cliniques en décembre 2004 soit de 71 à 99 mois après infection expérimentale (Wells *et al.*, 2005) : la portée de ces résultats est à relativiser car les techniques plus sensibles évoquées précédemment ont pu infirmer ces résultats pour les nerfs périphériques.

4.3. Les EST chez les petits ruminants (Cf annexe 2).

Chez les petits ruminants, trois types d'EST sont traditionnellement distingués : la tremblante classique, la tremblante atypique et l'ESB.

Il est important de souligner que le terme de tremblante classique est un terme opérationnel, désignant un groupe d'agents des EST qui, chez les petits ruminants, est associé à une signature biochimique de PrP anormale typique par la technique de Western Blot. Ce terme de tremblante classique recouvre un ensemble de différents agents biologiques dont les propriétés, notamment leur capacité à infecter les hôtes naturels et à disséminer dans leur organisme, peuvent varier.

Chez les ovins, il existe un effet majeur de certains polymorphismes du gène PRNP sur la sensibilité/résistance à l'infection par les agents des EST :

-En matière de tremblante classique et d'ESB les codons 136 (A ou V), 154 (R ou H) and 171 (R, Q ou H) (Cloucard *et al.*, 1995; Hunter *et al.*, 1996) déterminent la sensibilité à l'infection. Les animaux de génotype VRQ/VRQ, ARQ/VRQ et ARQ/ARQ sont considérés comme les plus

³ Fraction d'un échantillon de sang non coagulé après centrifugation qui contient la plupart des globules blancs et des plaquettes

sensibles aux agents de la tremblante classique, alors que les individus homozygotes ou hétérozygotes ARR et AHQ ne montrent qu'une sensibilité marginale.

- Les animaux porteurs d'un allèle AHQ et les animaux ARQ/ARQ sont considérés comme les plus sensibles à l'infection (expérimentale) par l'ESB alors que les animaux VRQ/VRQ semblent moins sensibles à cet agent.
- Les animaux ARR/ARR sont considérés comme très résistants à l'infection par ces agents (Hunter *et al.*, 1997; Hunter *et al.*, 1996). Toutefois plusieurs cas expérimentaux ou naturels d'infection ont été rapportés chez des animaux de ce génotype (Groschup *et al.*, 2007, Ikeda *et al.*, 1995, Houston *et al.*, 2003).
- En matière de tremblante atypique, le déterminisme génétique de la sensibilité chez les ovins est totalement différent de celui observé en tremblante classique ou ESB. Un sur-risque majeur de développer la maladie est associé aux allèles AHQ et AF141RQ, alors que les animaux de génotype ALRQ/ALRQ et VRQ/VRQ semblent moins à risque. Les animaux porteurs d'allèle ARR (homozygotes ou hétérozygotes) peuvent développer la maladie (Arsac *et al.*, 2007; Moreno *et al.*, 2007; Moum *et al.*, 2005).

Chez les caprins, les effets du polymorphisme du gène PRNP sur la sensibilité aux agents des EST sont beaucoup moins bien documentés que chez les ovins. Ce domaine fait toutefois l'objet d'une forte activité de recherche et des données encore partielles semblent suggérer que certains polymorphismes pourraient être associés à une plus grande sensibilité / résistance à l'infection. Ainsi les mutations R/H154- R/Q211- D/S146 et Q/K222 semblent réduire la sensibilité à l'infection par les agents de la tremblante classique (Barillet *et al.*, 2009; Gonzalez *et al.*, 2009, Vaccari *et al.* 2006). Au contraire, comme chez les ovins, l'allèle AHQ semble associé à un sur-risque de développement de la tremblante atypique. Pour l'instant, aucune donnée suffisamment solide ne permet d'évaluer l'effet de ces mutations sur la résistance à l'infection par l'agent de l'ESB.

Ces interactions complexes entre le génotype de l'hôte et l'agent de l'EST considérée sont de nature à influencer sur la distribution et la cinétique de dissémination du prion dans l'organisme des animaux infectés.

4.3.1. Tremblante classique

Il est communément admis qu'en conditions naturelles d'exposition, la contamination par les agents de la tremblante classique se produit principalement autour de la naissance (transmission materno-latérale) et que le placenta, qui peut accumuler des quantités importantes de PrP^{Sc} joue un rôle majeur dans ce processus (Andréoletti *et al.*, 2002; Pattison and Millson, 1961; Race *et al.*, 1998; Tuo *et al.*, 2002). Plus récemment, la mise en évidence d'infectiosité dans le colostrum et le lait de brebis atteintes ainsi que d'une transmission efficace à l'agneau par du lait issu de brebis en incubation de tremblante classique est venue renforcer ce postulat (Konold *et al.*, 2008; Lacroux *et al.*, 2008)⁴.

Rappelons que la période d'incubation est très variable, selon l'isolat et le génotype considérés. Ainsi, les périodes d'incubation traditionnellement rapportées dans la littérature varient de 20-24 mois pour les animaux VRQ/VRQ, à 30-36 mois pour les animaux ARQ/ARQ, et de 45 à 72 mois pour les animaux hétérozygotes ARR. Le cas clinique 'naturel' le plus précoce rapporté à ce jour était âgé de 6 mois (Adjou, communication Neuroprion 2007). Après inoculation orale à l'âge de 14 jours (5 g de cerveau d'ovin atteint), des animaux homozygotes VRQ développent une EST avec une période d'incubation moyenne de 6 mois, les premiers signes cliniques étant décelables dès 4 mois post-infection (Ryder SJ *et al.*, 2009). Ces données illustrent l'impact potentiel d'une inoculation expérimentale (même orale) sur le délai d'apparition de la maladie.

⁴ Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif aux possibles conséquences, en termes de santé animale et de santé publique, des nouvelles données scientifiques disponibles concernant la transmission intra-spécifique de l'agent de la tremblante classique par le lait en date du 8 octobre 2008

Compte tenu de ces éléments, l'Afssa estime que les études les plus pertinentes dans le contexte de la présente saisine sont celles conduites chez des animaux naturellement infectés.

Deux troupeaux naturellement atteints de tremblante ont été exploités par des équipes française et néerlandaise. Les animaux étudiés étaient de génotype VRQ/VRQ pour lesquels les périodes d'incubation sont les plus courtes. Une synthèse de la distribution d'infectiosité est présentée dans l'annexe 2.

Ces travaux, dont les résultats sont concordants, ont permis de démontrer que:

- De la PrP anormale est détectable dans les formations lymphoïdes secondaires annexées à l'iléon dès l'âge de 21 jours (Andreoletti *et al.*, 2002).
- La PrP^{Sc} dissémine et s'accumule dans les formations lymphoïdes de l'intestin et les nœuds lymphatiques mésentériques au cours des 2 premiers mois de la vie (Andreoletti *et al.*, 2000; Andréoletti *et al.*, 2002, Van Keulen *et al.*, 2002, Heggebø *et al.*, 2000).
- Chez les animaux de plus de 2 mois, on observe une dissémination de la PrP^{Sc} dans toutes les structures lymphoïdes secondaires de l'organisme (Andreoletti *et al.*, 2000; Andreoletti *et al.*, 2002, Van Keulen *et al.*, 2002).
- L'accumulation de PrP^{Sc} dans les organes lymphoïdes secondaires se poursuit avec l'âge, pour atteindre un plateau au delà de 6 mois (Andreoletti *et al.*, 2000). A ce stade, l'infectiosité présente dans les organes lymphoïdes peut atteindre des titres 50 fois plus faibles que ceux observés dans le tronc cérébral d'un animal en phase terminale de la maladie (à masse de tissu égale).
- Le système nerveux central (encéphale et moelle épinière) devient positif (PrP^{Sc} et infectiosité) entre 7 et 10 mois (Andréoletti *et al.*, 2000; Jeffrey *et al.*, 2001; van Keulen *et al.*, 2002).
- La présence de PrP^{Sc} dans le muscle squelettique est décelable dès l'âge de 13 mois, (Andréoletti, *et al.* 2004). Les niveaux d'infectiosité observés dans le muscle peuvent dans certains échantillons être équivalents à ceux observés dans les organes lymphoïdes des animaux âgés de plus de six mois. Toutefois, compte tenu de l'hétérogénéité de la distribution de l'agent infectieux dans le tissu musculaire strié, ces données sont à considérer avec précaution.
- La présence d'infectiosité dans le lait est décelable dès la première lactation. Les titres infectieux mesurés dans les fractions de lait ou de colostrum sont sensiblement inférieurs à ceux observés dans le cerveau (voir annexe 2).
- La présence d'infectiosité dans le sang a été rapportée chez des ovins âgés de trois mois. Cette infectiosité persiste tout au long de l'existence des animaux. Les données relatives aux titres infectieux sanguins ne sont pas disponibles à ce stade des expérimentations.

Notons également que la présence de PrPres a été rapportée dans le rein de moutons atteints de tremblante classique (Siso *et al.*, 2006) et dans la langue (Casalone *et al.*, 2005).

4.3.2. Cas des caprins

Lors d'une infection par un agent de la tremblante classique, le schéma de dissémination de la PrP^{Sc} dans l'organisme des caprins est globalement similaire à celui décrit chez les ovins.

Bien que quelques éléments relatifs à la cinétique de distribution dans l'organisme soient disponibles chez des animaux naturellement infectés, les données les plus complètes proviennent d'inoculations orales réalisées chez des chevreaux âgés de moins de deux semaines (Andréoletti – Chauvinau Perrin *et al.*, travaux non publiés).

Rappelons que, comme chez les ovins, certains polymorphismes du gène PRNP chez les caprins (codons 142, 154, 211 et 222 dans la population caprine française) semblent de nature à influencer fortement la sensibilité à l'infection et/ou la cinétique de dissémination du prion dans l'organisme. Les données disponibles à ce stade demeurent toutefois trop limitées pour être utilisées ici.

Trois expériences menées de façon indépendante ont permis d'indiquer, que dans les limites de ces études (animaux du génotype le plus sensible à l'infection I₁₄₂R₁₅₄R₂₁₁Q₂₂₂/ IRRQ, nature des agents de la tremblante classique et dose utilisées) :

- aucune accumulation de PrP^{Sc} n'est décelable dans les tissus des animaux avant l'âge de 3 mois ;
- de la PrP^{Sc} est détectée dans les formations lymphoïdes annexées à l'intestin chez des animaux âgés de plus de 3 mois ;
- de la PrP^{Sc} est détectée dans les formations lymphoïdes systémiques chez des animaux âgés de plus de 6 mois ;
- De la PrP^{Sc} est détectée dans le système nerveux central des animaux âgés de plus de 12 mois ;
- De la PrP^{Sc} est détectée dans les muscles squelettiques des animaux âgés de plus de 18 mois.

A l'heure actuelle aucune donnée relative aux titres infectieux présents dans ces différents tissus n'est disponible.

Enfin, des données préliminaires indiquent la présence d'infectiosité dans le lait des caprins en incubation de tremblante classique naturelle (Andréoletti – Chauvinau Perrin *et al.*, travaux non publiés).

4.3.3. Tremblante atypique

La tremblante atypique a été décrite pour la première fois en 1998 en Norvège (Benestad *et al.*, 2008). La découverte de la prévalence de cet agent des EST chez les petits ruminants (environ la moitié des cas d'EST détectés chez les petits ruminants ces dernières années) est directement liée au programme d'épidémiologie-surveillance actif des EST. Du fait des particularités biochimiques associées à la PrP^{Sc} dans ce type d'EST, il existe pour la tremblante atypique une très claire discordance entre les niveaux d'infectiosité détectables par bioessais sur souris transgéniques et la présence de PrP^{Sc} (fort titre infectieux en absence de PrP^{Sc} détectable).

Les rares données disponibles indiquent toutes une absence apparente d'accumulation de PrP^{Sc} dans les tissus périphériques des ovins atteints (naturellement ou expérimentalement) ou en incubation (cas précliniques naturels détectés au travers du programme d'épidémiologie-surveillance) de tremblante atypique.

Des résultats préliminaires obtenus par bioessais sur souris transgéniques pour le variant VRQ du gène PrP ovin indiquent la présence de niveaux a priori faibles d'infectiosité dans certains organes lymphoïdes d'animaux en incubation de tremblante atypique (cas naturels) ou dans les tissus musculaires striés et le système nerveux périphérique d'animaux cliniquement atteints de la maladie (inoculation intracérébrale).

A l'heure actuelle aucune donnée quant à l'impact des polymorphismes du gène PrP sur la distribution de l'infectiosité périphérique n'est disponible. De la même manière, nous ne disposons d'aucun élément permettant de préciser la cinétique et la dynamique de distribution de l'agent infectieux dans l'organisme des individus développant cette maladie.

4.3.4. ESB

Les données relatives à la distribution de l'agent responsable de l'ESB dans les tissus des petits ruminants concernent uniquement des animaux inoculés par voie orale. Bien que quelques éléments soient disponibles en matière de caprins ou d'ovins d'autres génotypes, l'essentiel des

résultats disponibles concernent les ovins de génotype ARQ/ARQ, considérés comme très sensibles à l'ESB.

Chez des animaux ARQ/ARQ infectés expérimentalement par voie orale (5 g d'encéphale de bovin atteint d'ESB) la présence de PrP^{Sc}, et/ou d'infectiosité a été observée :

- dans l'ensemble des formations lymphoïdes annexées à l'intestin, la rate et les ganglions mésentériques dès 4 mois ;
- dans les autres formations lymphoïdes secondaires des animaux âgés de 10 mois ;
- dans le système nerveux central des animaux âgés de 10 mois ;

Comme en tremblante classique, de l'infectiosité a pu être mise en évidence par bioessais à partir d'échantillons de muscle squelettique, de lait et de sang, sans que les niveaux d'infectiosité ou la cinétique d'apparition de l'infectiosité dans ces tissus puissent à ce stade être clairement précisées.

La présence d'infectiosité a par ailleurs été détectée dans le thymus d'ovins infecté par cette souche (Bellworthy *et al.*, 2005).

5. CONCLUSION

La dynamique de distribution du prion dans les tissus des petits ruminants infectés par certains agents de la tremblante classique et des bovins infectés par l'agent de l'ESB classique est aujourd'hui bien documentée.

L'Afssa tient à souligner la complexité des relations hôte-pathogène en matière d'EST, principalement chez les petits ruminants. Cette complexité tient à la biodiversité des agents de la tremblante classique et à l'impact potentiel des polymorphismes du gène PRNP sur la pathogénie des infections à prion. Compte tenu de l'influence de ces paramètres, mais aussi de la voie et de la pression d'infection sur la pathogénèse des EST, les connaissances disponibles sur lesquelles se base cet avis ne peuvent être considérées comme définitives.

En matière de formes d'EST atypiques (ESB de types H et L, tremblante atypique) les connaissances dont nous disposons sont extrêmement fragmentaires et limitées. Les expérimentations en cours ou à venir devraient permettre au cours des prochaines années une meilleure compréhension de ces formes atypiques avec un impact probable sur l'évaluation des risques d'exposition alimentaire spécifiques à ces agents.

La mise en œuvre de travaux de pathogénèse sur ces souches atypiques, dans un contexte épidémiologique où la prévalence de ces formes d'EST atteint voire dépasse celle des formes classiques, apporterait des éléments d'éclairage indispensables à la compréhension de ces maladies.

Tels sont les éléments que l'Afssa est en mesure de fournir actuellement.

Le directeur général

Marc MORTUREUX

MOTS-CLES

Mots clés : ESST, infectiosité, tissus, MRS, petits ruminants.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Adjou, K; Humeau, G; Messiaens, S; El Hachimi, KH; Ouidja, M; Couquet, C; Deslys, JP; Eloit, M; Brugere-Picoux, J. Characterization of a Highly Pathogenic Isolate of Sheep Scrapie in Transgenic Mice Overexpressing Murine PrP; Neuroprion 2007, Edinburgh, Scotland, UK.
- Andréoletti O, Berthon P, Marc D, Sarradin P, Grosclaude J, van Keulen L, Schelcher F, Elsen JM, Lantier F Early accumulation of PrP(Sc) in gut-associated lymphoid and nervous tissues of susceptible sheep from a Romanov flock with natural scrapie. *J Gen Virol.* 2000 Dec;81(Pt 12):3115-26.
- Andréoletti O, Lacroux C, Chabert A, Monnereau L, Tabouret G, Lantier F, Berthon P, Eychenne F, Lafond-Benestad S, Elsen JM, Schelcher F. PrP(Sc) accumulation in placentas of ewes exposed to natural scrapie: influence of foetal PrP genotype and effect on ewe-to-lamb transmission. *J Gen Virol.* 2002 Oct;83(Pt 10):2607-16
- Andréoletti O, Simon S, Lacroux C, Morel N, Tabouret G, Chabert A, Lugan S, Corbière F, Ferré P, Foucras G, Laude H, Eychenne F, Grassi J, Schelcher F PrPSc accumulation in myocytes from sheep incubating natural scrapie. *Nat Med.* 2004 Jun;10(6):591-3.
- Arnold ME, Ryan JB, Konold T, Simmons MM, Spencer YI, Wear A, Chaplin M, Stack M, Czub S, Mueller R, Webb PR, Davis A, Spiropoulos J, Holdaway J, Hawkins SA, Austin AR, Wells GA. Estimating the temporal relationship between PrPSc detection and incubation period in experimental bovine spongiform encephalopathy of cattle. *J Gen Virol.* 2007 Nov;88(Pt 11):3198-208.
- Arnold ME, Hawkins SA, Green R, Dexter I, Wells GA. Pathogenesis of experimental bovine spongiform encephalopathy (BSE): estimation of tissue infectivity according to incubation period *Vet Res.* 2009 Jan-Feb;40(1):8.
- Arsac JN, Andreoletti O, Bilheude JM, Lacroux C, Benestad SL, Baron T. Similar biochemical signatures and prion protein genotypes in atypical scrapie and Nor98 cases, France and Norway. *Emerg Infect Dis.* 2007 Jan;13(1):58-65
- Barillet F, Mariat D, Amigues Y, Faugeras R, Caillat H, Moazami-Goudarzi K, Rupp R, Babilliot JM, Lacroux C, Lugan S, Schelcher F, Chartier C, Corbière F, Andréoletti O, Perrin-Chauvineau C Identification of seven haplotypes of the caprine PrP gene at codons 127, 142, 154, 211, 222 and 240 in French Alpine and Saanen breeds and their association with classical scrapie. *J Gen Virol.* 2009 Mar;90(Pt 3):769-76.
- Béringue V, Andréoletti O, Le Dur A, Essalmani R, Vilotte JL, Lacroux C, Reine F, Herzog L, Biacabé AG, Baron T, Caramelli M, Casalone C, Laude H. A bovine prion acquires an epidemic bovine spongiform encephalopathy strain-like phenotype on interspecies transmission *J Neurosci.* 2007 Jun 27;27(26):6965-71.
- Béringue V, Herzog L, Reine F, Le Dur A, Casalone C, Vilotte JL, Laude H. Transmission of atypical bovine prions to mice transgenic for human prion protein. *Emerg Infect Dis.* 2008 Dec;14(12):1898-901.
- Bellworthy SJ, Hawkins SA, Green RB, Blamire I, Dexter G, Dexter I, Lockey R, Jeffrey M, Ryder S, Berthelin-Baker C, Simmons MM. Tissue distribution of bovine spongiform encephalopathy infectivity in Romney sheep up to the onset of clinical disease after oral challenge. *Vet Rec.* 2005 Feb 12;156(7):197-202

- Benestad SL, Arzac JN, Goldmann W, Nöremark M. Atypical/Nor98 scrapie: properties of the agent, Genetics, and epidemiology. *Vet Res.* 2008 Jul-Aug;39(4):19. Review.
- Biacabe AG, Laplanche JL, Ryder S, Baron T. Distinct molecular phenotypes in bovine prion diseases. *EMBO Rep.* 2004 Jan;5(1):110-5
- Buschmann A, Groschup MH. Highly bovine spongiform encephalopathy-sensitive transgenic mice confirm the essential restriction of infectivity to the nervous system in clinically diseased cattle. *J Infect Dis.* 2005 Sep 1;192(5):934-42..
- Capobianco R, Casalone C, Suardi S, Mangieri M, Miccolo C, Limido L, Catania M, Rossi G, Di Fede G, Giaccone G, Bruzzone MG, Minati L, Corona C, Acutis P, Gelmetti D, Lombardi G, Groschup MH, Buschmann A, Zanusso G, Monaco S, Caramelli M, Tagliavini F Conversion of the BASE prion strain into the BSE strain: the origin of BSE? *PLoS Pathog.* 2007 Mar;3(3):e31.
- Caramelli M, Gambetti P. Evaluation of the human transmission risk of an atypical bovine spongiform encephalopathy prion strain. *J Virol.* 2008 Apr;82(7):3697-701. Epub 2008 Jan 30
- Casalone C, Zanusso G, Acutis P, Ferrari S, Capucci L, Tagliavini F, Monaco S, Caramelli M. Identification of a second bovine amyloidotic spongiform encephalopathy: molecular similarities with sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004 Mar 2;101(9):3065-70. Epub 2004 Feb 17.
- Casalone C, Corona C, Crescio MI, Martucci F, Mazza M, Ru G, Bozzetta E, Acutis PL, Caramelli M. Pathological prion protein in the tongues of sheep infected with naturally occurring scrapie. *J Virol.* 2005 May;79(9):5847-9
- Comoy EE, Casalone C, Lescoutra-Etcheagaray N, Zanusso G, Freire S, Marcé D, Auvré F, Ruchoux MM, Ferrari S, Monaco S, Salès N, Caramelli M, Leboulch P, Brown P, Lasmézas CI, Deslys JP. Atypical BSE (BASE) transmitted from asymptomatic aging cattle to a primate. *PLoS One.* 2008 Aug 20;3(8)).
- Cloucard C, Beaudry P, Elsen JM, Milan D, Dussaucy M, Bounneau C, Schelcher F, Chatelain J, Launay JM, Laplanche JL. Different allelic effects of the codons 136 and 171 of the prion protein gene in sheep with natural scrapie. *J Gen Virol.* 1995 Aug;76 (Pt 8):2097-101.
- Espinosa JC, Morales M, Castilla J, Rogers M, Torres JM. Progression of prion infectivity in asymptomatic cattle after oral bovine spongiform encephalopathy challenge. *J Gen Virol.* 2007 Apr;88(Pt 4):1379-83
- Espinosa JC, Baron T, Torres JM, Erhardt G, Andréoletti O. Classic scrapie in sheep with the ARR/ARR prion genotype in Germany and France. Groschup MH, Lacroux C, Buschmann A, Lühken G, Mathey J, Eiden M, Lugan S, Hoffmann C, Espinosa JC, Baron T, Torres JM, Erhardt G, Andréoletti O. *Emerg Infect Dis.* 2007 Aug;13(8):1201-7
- Espinosa JC, Herva ME, Andréoletti O, Padilla D, Lacroux C, Cassard H, Lantier I, Castilla J, Torres JM. Transgenic mice expressing porcine prion protein resistant to classical scrapie but susceptible to sheep bovine spongiform encephalopathy and atypical scrapie. *Emerg Infect Dis.* 2009 Aug;15(8):1214-21
- Everest SJ, Thorne LT, Hawthorn JA, Jenkins R, Hammersley C, Ramsay AM, Hawkins SA, Venables L, Flynn L, Sayers R, Kilpatrick J, Sach A, Hope J, Jackman R. No abnormal prion

protein detected in the milk of cattle infected with the bovine spongiform encephalopathy agent. *J Gen Virol.* 2006 Aug;87(Pt 8):2433-41.

González L, Martin S, Sisó S, Konold T, Ortiz-Peláez A, Phelan L, Goldmann W, Stewart P, Saunders G, Windl O, Jeffrey M, Hawkins SA, Dawson M, Hope J High prevalence of scrapie in a dairy goat herd: tissue distribution of disease-associated PrP and effect of PRNP genotype and age. *Vet Res.* 2009 Nov-Dec;40(6):65.

Grassi J, Comoy E, Simon S, Créminon C, Frobert Y, Trapmann S, Schimmel H, Hawkins SA, Moynagh J, Deslys JP, Wells GA Rapid test for the preclinical postmortem diagnosis of BSE in central nervous system tissue. *Vet Rec.* 2001 Nov 10;149(19):577-82

Groschup MH, Lacroux C, Buschmann A, Lühken G, Mathey J, Eiden M, Lugan S, Hoffmann C, Espinosa JC, Baron T, Torres JM, Erhardt G, Andreoletti O. Classic scrapie in sheep with the ARR/ARR prion genotype in Germany and France. *Emerg Infect Dis.* 2007 Aug;13(8):1201-7.

Hadlow WJ, Kennedy RC, Race RE . Natural infection of Suffolk sheep with scrapie virus. *J Infect Dis.* 1982 Nov;146(5):657-64

Houston F, Goldmann W, Chong A, Jeffrey M, González L, Foster J, Parnham D, Hunter N. Prion diseases: BSE in sheep bred for resistance to infection. *Nature.* 2003 May 29;423(6939):498.

Hunter N, Foster JD, Goldmann W, Stear MJ, Hope J, Bostock C. Natural scrapie in a closed flock of Cheviot sheep occurs only in specific PrP genotypes. *Arch Virol.* 1996;141(5):809-24.

Hunter N, Foster J, Chong A, McCutcheon S, Parnham D, Eaton S, MacKenzie C, Houston F. Transmission of prion diseases by blood transfusion. *J Gen Virol.* 2002 Nov;83(Pt 11):2897-905

Heggebø R, Press CM, Gunnes G, González L, Jeffrey M. Distribution and accumulation of PrP in gut-associated and peripheral lymphoid tissue of scrapie-affected Suffolk sheep. *J Gen Virol.* 2002 Feb;83(Pt 2):479-89.

Heikenwalder M, Zeller N, Seeger H, Prinz M, Klöhn PC, Schwarz P, Ruddle NH, Weissmann C, Aguzzi Chronic lymphocytic inflammation specifies the organ tropism of prions. *A.Science.* 2005 Feb 18;307(5712):1107-10.

Hoffmann C, Ziegler U, Buschmann A, Weber A, Kupfer L, Oelschlegel A, Hammerschmidt B, Groschup MH. Prions spread via the autonomic nervous system from the gut to the central nervous system in cattle incubating bovine spongiform encephalopathy. *J Gen Virol.* 2007 Mar;88(Pt 3):1048-55.

Hunter N, Foster JD, Goldmann W, Stear MJ, Hope J, Bostock C. Natural scrapie in a closed flock of Cheviot sheep occurs only in specific PrP genotypes. *Arch Virol.* 1996;141(5):809-24.

Hunter N, Moore L, Hosie BD, Dingwall WS, Greig A. Association between natural scrapie and PrP genotype in a flock of Suffolk sheep in Scotland. *Vet Rec.* 1997 Jan 18;140(3):59-63.

Ikeda T, Horiuchi M, Ishiguro N, Muramatsu Y, Kai-Uwe GD, Shinagawa M. Amino acid polymorphisms of PrP with reference to onset of scrapie in Suffolk and Corriedale sheep in Japan. *J Gen Virol.* 1995 Oct;76 (Pt 10):2577-81

- Jeffrey M, Martin S, González L, Ryder SJ, Bellworthy SJ, Jackman R.. Differential diagnosis of infections with the bovine spongiform encephalopathy (BSE) and scrapie agents in sheep. *J Comp Pathol*. 2001 Nov;125(4):271-84
- Kong Q, Zheng M, Casalone C, Qing L, Huang S, Chakraborty B, Wang P, Chen F, Cali I, Corona C, Martucci F, Iulini B, Acutis P, Wang L, Liang J, Wang M, Li X, Monaco S, Zanusso G, Zou WQ, Evaluation of the human transmission risk of an atypical bovine spongiform encephalopathy prion strain. *J Virol*. 2008 Apr;82(7):3697-701.
- Konold T, Moore SJ, Bellworthy SJ, Simmons HA Evidence of scrapie transmission via milk. . *BMC Vet Res*. 2008 Apr 8;4:14.
- Lacroux C, Simon S, Benestad SL, Mailet S, Mathey J, Lugan S, Corbière F, Cassard H, Costes P, Bergonier D, Weisbecker JL, Moldal T, Simmons H, Lantier F, Feraudet-Tarisse C, Morel N, Schelcher F, Grassi J, Androletti Prions in milk from ewes incubating natural scrapie.O. *PLoS Pathog*. 2008 Dec;4(12)..
- Lasmézas CI, Deslys JP, Robain O, Jaegly A, Beringue V, Peyrin JM, Fournier JG, Hauw JJ, Rossier J, Dormont D. Transmission of the BSE agent to mice in the absence of detectable abnormal prion protein. *Science*. 1997 Jan 17;275(5298):402-5
- Ligos C, Sigurdson CJ, Santucci C, Carcassola G, Manco G, Basagni M, Maestrale C, Cancedda MG, Madau L, Aguzzi A. PrPSc in mammary glands of sheep affected by scrapie and mastitis. *Nat Med*. 2005 Nov;11(11):1137-8.
- Lombardi G, Casalone C, D' Angelo A, Gelmetti D, Torcoli G, Barbieri I, Corona C, Fasoli E, Farinazzo A, Fiorini M, Gelati M, Iulini B, Tagliavini F, Ferrari S, Caramelli M, Monaco S, Capucci L, Zanusso G. Intraspecies transmission of BASE induces clinical dullness and amyotrophic changes. *PLoS Pathog*. 2008 May 23;4(5)
- Masujin K, Matthews D, Wells GA, Mohri S, Yokoyama T. Prions in the peripheral nerves of bovine spongiform encephalopathy-affected cattle. *J Gen Virol*. 2007 Jun;88(Pt 6):1850-8.
- Moum T, Olsaker I, Hopp P, Moldal T, Valheim M, Moum T, Benestad SL. Polymorphisms at codons 141 and 154 in the ovine prion protein gene are associated with scrapie Nor98 cases. *J Gen Virol*. 2005 Jan;86(Pt 1):231-5
- Moreno CR, Moazami-Goudarzi K, Laurent P, Cazeau G, Androletti O, Chadi S, Elsen JM, Calavas D. Which PrP haplotypes in a French sheep population are the most susceptible to atypical scrapie? *Arch Virol*. 2007;152(6):1229-32.
- O'Rourke KI, Zhuang D, Cheevers WP, Spraker TR, Knowles DP Pregnancy status and fetal prion genetics determine PrPSc accumulation in placentomes of scrapie-infected sheep. Tuo W,. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002 Apr 30;99(9):6310-5.
- Pattison IH, Millson G.C. Scrapie produced experimentally in goats with special reference to the clinical syndrome. *J Comp Pathol*. 1961 Apr;71:101-9.
- Race R, Jenny A, Sutton D Scrapie infectivity and proteinase K-resistant prion protein in sheep placenta, brain, spleen, and lymph node: implications for transmission and antemortem diagnosis.. *J Infect Dis*. 1998 Oct;178(4):949-53.

- Ryder SJ, Dexter GE, Heasman L, Warner R, Moore SJ. Accumulation and dissemination of prion protein in experimental sheep scrapie in the natural host. *BMC Vet Res.* 2009 Feb 25;5:9
- Sisó S, González L, Jeffrey M, Martin S, Chianini F, Steele P, Prion protein in kidneys of scrapie-infected sheep. *Vet Rec.* 2006 Sep 2;159(10):327-8.
- Suardi S, Vimercati C, Moda F, Margherita R., Campagnani I, Lombardi G, Gelmetti, D Groschup MH, Buschmann A., Casalone C, Caramelli M, Monaco S, Zanusso G, Tagliavini F Infectivity in skeletal muscle of BASE-infected cattle, communication orale; *Neuroprion* 2009.
- Sohn HJ, Lee YH, Green RB, Spencer YI, Hawkins SA, Stack MJ, Konold T, Wells GA, Matthews D, Cho IS, Joo YS. Bone marrow infectivity in cattle exposed to the bovine spongiform encephalopathy agent. *Vet Rec.* 2009 Feb 28;164(9):272-3.
- Terry LA, Marsh S, Ryder SJ, Hawkins SA, Wells GA, Spencer YI. Detection of disease-specific PrP in the distal ileum of cattle exposed orally to the agent of bovine spongiform encephalopathy. *Vet Rec.* 2003 Mar 29;152(13):387-92.
- Thuring CM, van Keulen LJ, Langeveld JP, Vromans ME, van Zijderveld FG, Sweeney T. Immunohistochemical distinction between preclinical bovine spongiform encephalopathy and scrapie infection in sheep. *J Comp Pathol.* 2005 Jan;132(1):59-69.
- Tuo W, O'Rourke KI, Zhuang D, Cheevers WP, Spraker TR, Knowles DP. Pregnancy status and fetal prion genetics determine PrP^{Sc} accumulation in placentomes of scrapie-infected sheep. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002 Apr 30;99(9):6310-5.
- Update of the opinion on TSE infectivity distribution in ruminant tissues initially adopted by the Scientific Steering Committee at its meeting of 10-11 January 2002 and amended at its meeting of 7-8 november 2002.
- Vaccari G, Di Bari MA, Morelli L, Nonno R, Chiappini B, Antonucci G, Marcon S, Esposito E, Fazzi P, Palazzini N, Troiano P, Petrella A, Di Guardo G, Agrimi U. Identification of an allelic variant of the goat PrP gene associated with resistance to scrapie. *J Gen Virol.* 2006 May;87(Pt 5):1395-402
- van Keulen LJ, Vromans ME, van Zijderveld FG. Early and late pathogenesis of natural scrapie infection in sheep. *APMIS.* 2002 Jan;110(1):23-32
- van Keulen LJ, Vromans ME, Dolstra CH, Bossers A, van Zijderveld FG. Pathogenesis of bovine spongiform encephalopathy in sheep. *Arch Virol.* 2008;153(3):445-53. Epub 2007 Dec 19.
- Wells GA, Hawkins SA, Green RB, Austin AR, Dexter I, Spencer YI, Chaplin MJ, Stack MJ, Dawson M. Preliminary observations on the pathogenesis of experimental bovine spongiform encephalopathy (BSE): an update. *Vet Rec.* 1998 Jan 31;142(5):103-6.
- Wells GA, Spiropoulos J, Hawkins SA, Ryder SJ. Pathogenesis of experimental bovine spongiform encephalopathy: preclinical infectivity in tonsil and observations on the distribution of lingual tonsil in slaughtered cattle. *Vet Rec.* 2005 Mar 26;156(13):401-7.
- WHO Guidelines on tissue infectivity distribution in transmissible spongiform encephalopathies
<http://www.who.int/bloodproducts/cs/TSEPUBLISHEDREPORT.pdf>

ANNEXE 1 : TISSUS BOVINS

Tissu considéré	infection expérimentale 1g		infection expérimentale 100g		Conditions naturelles	
	PrPres	Infectiosité	PrPres	Infectiosité	PrPres	Infectiosité
Système nerveux central						
Cerveau	42 mois ¹		30 mois ¹ 24 mois ³	27 mois ² 32-33 mois ²⁻⁶	++	10 ^{7,67} LD50/g en tg bov ⁴
Moelle épinière	42 mois ¹		30 mois ¹	32 mois ⁵		++ ⁴
Rétine						++ ⁴
Nerf optique						++ ⁴
Système nerveux périphérique						
Ganglions rachidiens	42 mois ¹ (faible)		32 mois ¹			
Ganglions trijumeaux	48 mois ¹		32 mois ¹			
Nerfs périphériques	44 mois ⁵		35 mois ⁵	30 mois ²	+ ⁸	+ ⁸
Ganglions système nerveux autonome			24 mois ³			
Système lymphoréticulaire						
Amygdales palatines				10 mois ⁷ -20 mois ²		
Système endocrinien						
Glandes surrénales			35 mois ⁸		+ ⁸	+ ⁸
Appareil digestif						
Duodenum			Négatif à 6 mois (IHC) ⁵			
Jejunum			positif ⁹			
Ileum			6 mois ⁵	6-18 mois ⁶ 36-40 mois ⁵⁻⁶		
Muscles squelettiques						
Muscle semi-tendineux ⁴						Très faible ⁴
Tissus dépourvus d'infectiosité						
Rate						Négatif (par bioessais sur souris sur exprimant la PrP bovine) : Si infectiosité : niveau 10 ⁷ fois moindre que celle du cerveau ⁴
Sang						
CSF						
Colostrum						
Ganglion mésentérique						
Liquide amniotique						
Coeur						
Muscle long dorsal						
Urine						

1: Arnold, *J Gen Virol.* 2007
 2: Espinosa, *J Gen Virol.* 2007
 3: Hoffmann, *J Gen Virol.* 2007
 4: Buschmann, *J Infect Dis.* 2005
 5: Terry, *Vet Rec.* 2003

6: Wells, *Vet Rec.* 1998.
 7: Wells et al *Vet Rec.* 2005.
 8: Masujin K, *J Gen Virol.* 2007.
 9 : WHO Tables on Tissue Infectivity Distribution in Transmissible Spongiform Encephalopathies ; 2010

ANNEXE 2 : TISSUS OVINS ET CAPRINS

Tissus	Tremblante classique				ESB ovine		Tremblante atypique	
	Caprins (I ₁₄₂ R ₁₅₄ R ₂₁₁ Q ₂₂₂ /IRRQ)		Ovins (VRQ/VRQ)		Expérimentale voie orale (ARQ/ARQ)		Naturelle (Nat) ou Expérimentale (Exp) (stade clinique)	
	Infectiosité	PrP ^{Sc}	Infectiosité	PrP ^{Sc}	Infectiosité	PrP ^{Sc}	Infectiosité	PrP ^{Sc}
<i>Système nerveux central</i>								
Cerveau (obex)	+	+ (>12 m- <20m)	+	+ (>7 m- <10m)	+ (>4 m- <10m)	+ (>6 m- <9m)	+ (Nat et Exp)	+ (Nat et Exp)
Moelle épinière	+	+ (>12 m- <20m)	+	+ (>7 m- <10m)	+	+ (>6 m- <9m)	+(Nat et Exp)	+/- (Nat et Exp)
<i>Système nerveux périphérique</i>								
Nerf vague	Non transmis (NT)	+		+	NT	+		
Membres postérieurs	NT	+ (>12 m- <20m)	+	+ (>10m- <13m)	NT	+	+ (Exp)	+/- (Exp)
Membres antérieurs	NT	+ (>12 m- <20m)	+	+ (>10m- <13m)	NT	+	+ (Exp)	+/- (Exp)
<i>Tissus lymphoïdes</i>								
Tonsilles palatines	NT	+ (>6 m- <12m)	+	+ (>21j- <64j)	+	+ (>4m- <6m)	+ (Nat)	- (Exp)
Noeuds lymphatiques de la tête	NT	+ (>6 m- <12m)	+	+ (>21j- <64j)	+	+ (>4m- <10m)	+ (Nat)	- (Exp)
Noeuds lymphatiques de la cavité thoracique	NT	+ (>6 m- <12m)	+	+ (>64j- <104j)	NT	+ (>4m- <10m)	NT	- (Exp)
Noeuds lymphatiques mésentérique	NT	+ (>4 m- <6m)	+ (>18j - <30j)	+ (>10j - <21j)	+	+ (<4m)	NT	- (Exp)
Noeuds lymphatiques préscapulaire ⁵	NT	+ (>6 m- <12m)	+	+ (>64j- <90j)	+	+ (>4m- <10m)	+ (Nat)	- (Exp)
Noeuds lymphatiques précurral ⁶	NT	+ (>6 m- <12m)	+	+ (>64j- <90j)	+	+ (>4m- <10m)	NT	- (Exp)
Rate	NT	+ (>6 m- <12m)	+	+ (>64j- <104j)	+ (>4m- <10m)	+ (<4m)	NT	- (Exp)
thymus				(+) ⁷	+			

⁵ Membres antérieurs

⁶ Membres postérieurs

⁷ Données sujettes à caution

Tissus	Tremblante classique				ESB ovine		Tremblante atypique	
	Caprins (I ₁₄₂ R ₁₅₄ R ₂₁₁ Q ₂₂₂ /IRRQ)		Ovins (VRQ/VRQ)		Expérimentale voie orale (ARQ/ARQ)		Naturelle ou Expérimentale (stade clinique)	
	Infectiosité	PrP ^{Sc}	Infectiosité	PrP ^{Sc}	Infectiosité	PrP ^{Sc}	Infectiosité	PrP ^{Sc}
<i>Intestin</i>								
Duodenum	NT	(>4m ⁺ - <6m)	+	(>2m ⁺ - <3m)	NT	(<4m) ⁺	NT	- (Exp)
Jejunum	NT	(>4m ⁺ - <6m)	+	(>2m ⁺ - <3m)	NT	(<4m) ⁺	NT	- (Exp)
Ileum	NT	(>3m ⁺ - <4m)	+	(>10j ⁺ - <21j)	(<4m) ⁺	(<4m) ⁺	NT	- (Exp)
Coecum	NT	(>4m ⁺ - <6m)	+	(>2m ⁺ - <3m)	NT	(<4m) ⁺	NT	- (Exp)
<i>divers</i>								
Lait	+ ⁸	(-)	+ (1 ^e lactation)	(-)	+ (1 ^e lactation)	(-)	NT	NT
Colostrum	NT	NT	+ (1 ^e lactation)	(-)	+ (1 ^e lactation)	(-)	NT	NT
Muscle squelettique	+ (titration en cours)	(>18m ⁺ - <21m)	(<13m) ⁺	(>10m ⁺ - <13m)	+	(>10m ⁺ - <19m)	+ (Exp)	- (Exp)
Sang	NT	NT	(<3m) ⁺	(-)	(<10m) ⁺	(-)	NT	NT
Rein				+				

Sources :

Tremblante classique caprine :

projet AFSSA –INRA INOC 2005 / Projet AFSSA INRA INOC 2003 (communication personnelle)

Tremblante classique ovine :

Andreoletti et al J Gen Virol 2000
 Andreoletti et al J Gen Virol 2002
 Andreoletti et al Nature Medicine 2004
 Andreoletti et al communication personnelle
 Lacroux et al Plos Pathogen 2008
 Van Keulen et al APMIS 2002
 Andreoletti et al Neuroprion 2007 Edimburgh.
 Siso et al. 2006

ESB expérimentale ovine:

Thuring et al J Comp Pathol 2005
 Van Keulen et al Arch Virol 2005
 Lantier et al communication Neuroprion 2008 Madrid
 Bellworthy et al Vet Rec 2005
 Hunter et al J Gen Virol 2002

Tremblante atypique :

Andreoletti – Benestad – Orge et al communication personnelle
 Remarque : les intervalles de temps mentionnés dans ces tableaux peuvent être déduits de plusieurs études.

⁸ Les titres infectieux mesurés par inoculation intracérébrale à la souris transgénique tg338 dans le lait et le colostrum varient entre 10^{0,1} et 10^{1,6} DI₅₀ par ml, à rapporter à un niveau de 10^{6,8} DI₅₀ par g pour le cerveau.