

ASSOCIATION TOXICOLOGIE - CNAM

DOSSIER TOXICOCHIMIE

1

**DES PRIONS AUX ENCEPHALOPATHIES SPONGIFORMES
SUBAIGUES TRANSMISSIBLES**

**ANDRE PICOT
(Président de l'ATC)**

Document Internet

<http://atctoxicologie.free.fr>

Février 2005

PARIS

ACTUALITES SCIENTIFIQUES

DOSSIER TOXICOCHIMIE 1

FEVRIER 2005

DES PRIONS AUX ENCEPHALOPATHIES SPONGIFORMES SUBAIGUES TRANSMISSIBLES

LES PRIONS, D'ETRANGES PROTEINES NEUROTOXIQUES, COUPABLES (OU NON ?); DE LA MALADIE DE LA VACHE FOLLE, DE LA MALADIE DE CREUTZFELDT- JAKOB ET DE DIVERSES AUTRES ENCÉPHALOPATHIES SPONGIFORMES SUBAIGUËS TRANSMISSIBLES (ESST).

QUELS RISQUES POUR L'HOMME ?

ANDRE PICOT ✉

✉ Président de l'Association
Toxicologie - CNAM
50 rue de Dampierre
78460 Chevreuse

andrepicot@freesurf.fr

☎ 06 10 82 44 21

DES PRIONS AUX ENCEPHALOPATHIES SPONGIFORMES SUBAIGUES TRANSMISSIBLES

LES PRIONS, D'ÉTRANGES PROTEINES NEUROTOXIQUES, COUPABLES (OU NON ?); DE LA MALADIE DE LA VACHE FOLLE, DE LA MALADIE DE CREUTZFELDT- JAKOB ET DE DIVERSES AUTRES ENCÉPHALOPATHIES SPONGIFORMES SUBAIGUËS TRANSMISSIBLES (ESST).

QUELS RISQUES POUR L'HOMME ?

SOMMAIRE

- 1 • UN PRIX NOBEL POUR LES PRIONS : DES AGENTS TRANSMISSIBLES NON CONVENTIONNELS, ENCORE BIEN MYSTERIEUX**
- 2 • LES AGENTS TRANSMISSIBLES NON CONVENTIONNELS (ATNC) OU PRIONS ET LEURS MALADIES.**
- 3 • LE PRION NORMAL PrP^C : UNE PETITE GLYCOPROTÉINE À LA SÉQUENCE ENTRE ESPÈCES ANIMALES BIEN CONSERVÉE**
- 4. LE PRION PATHOGENE PrP^{res} : UN CHANGEMENT DE CONFORMATION DU PRION NORMAL PrP^C**
- 5 • COMMENT LE PRION DEVIENT-IL PATHOGÈNE ?**
- 6 • EXISTE-T'IL DES PATHOLOGIES AUTRES QUE LES MALADIES À PRIONS ET QUI SONT ASSOCIÉES À UN REPLIEMENT INCORRECT DE PROTÉINES ?**
- 7 • ET SI L'AGENT INFECTIEUX DES ESST N'ÉTAIT PAS UNIQUEMENT LA PROTÉINE PRION ?**
- 8 • QUELS SONT LES RISQUES DE TRANSMISSION À L'HOMME ?**
- 9 • GESTION DES RISQUES LIÉS AUX PRIONS ET PROTECTION DE L'HOMME**
- 10 • LE PRION : UNE PROTÉINE D'UNE INCROYABLE RÉSISTANCE**
- 11 • LES CONSIGNES DE SÉCURITÉ DOIVENT ÊTRE DRASTIQUES EN MILIEU DE TRAVAIL**
- 12 • CONCLUSION : LES MALADIES A PRIONS : UN PROBLÈME DE SOCIÉTÉ À RÉSOUDRE RAPIDEMENT**

- BIBLIOGRAPHIE, POUR EN SAVOIR PLUS**
- L'HISTOIRE INACHEVÉE DE LA VACHE FOLLE**
- QUELQUES MOTS-CLEFS INDISPENSABLES**

1 • UN PRIX NOBEL POUR LES PRIONS : DES AGENTS TRANSMISSIBLES NON CONVENTIONNELS, ENCORE BIEN MYSTÉRIEUX

1. Un prix Nobel pour les prions : des agents transmissibles non conventionnels, encore bien mystérieux.

Le **prix Nobel 1997** de physiologie et de médecine, a été attribué en **octobre 1997** à Stanley **Prusiner**, pour avoir ajouté le **prion**, nouveau principe biologique d'infection, à la liste des agents infectieux classiques, qui regroupe les bactéries, les virus, les champignons et les parasites [1].

Ce prix Nobel, attribué uniquement à Stanley **Prusiner**, a récompensé l'obstination d'un chercheur américain, actuellement professeur de neurologie à l'Université de Californie à San Francisco, qui s'est acharné pendant plus de 20 ans, seul contre une bonne partie de la communauté scientifique, à démontrer que les **prions** sont responsables des **encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles (ESST)**, tant animales qu'humaines.

C'était la première fois que les membres de l'Institut Karolinska de Stockholm avaient pris le risque inhabituel pour cette institution, de récompenser un chercheur dont les travaux n'étaient pas totalement validés.

Comme l'a déclaré Luc **Montagnier** au journal Le Monde (8-10-97) « La leçon que l'on peut tirer de ce prix est qu'il faut en sciences comme ailleurs, savoir se battre pour ses idées, quand même ces dernières, sont perçues dérangeantes pour ses pairs ».

C'est en **1967** que Thykave **Alper** [15], travaillant à Londres, découvre que les **ultraviolets** dont le pic d'absorption est à 250 nanomètres et **qui détruisent les acides nucléiques**, sont **inactifs sur l'agent responsable de la tremblante du mouton** (scrapie) et que par ailleurs la **très petite taille de la particule infectieuse** est plus compatible avec celle d'une **protéine** qu'avec celle d'un virus. La même année le mathématicien John **Griffith** [16], du Bedford Collège de Londres, suggère que l'**agent infectieux de la scrapie** est en fait une **protéine cellulaire** dont la **conformation spatiale est altérée** et qui peut **s'auto-répliquer**, c'est à dire se reproduire ! Hypothèse révolutionnaire pour l'époque !

En France Raymond **Latarjet** en **1970** [17], apporte quelques preuves expérimentales sur la **nature protéique** de cet **agent infectieux non conventionnel**, en particulier que cette particule infectieuse est

sensible au rayonnement ultra violet à 280nm, pic d'absorption des **protéines**.

Le prion : Proteinaceous Infectious Particle est décrit en 1982 par Stanley Prusiner et correspond à l'anagramme : **PR**oteinaeous **I**nfectiosity **O**nly

Reprenant cette hypothèse, Stanley **Prusiner** en **1970**, purifie partiellement cette **protéine infectieuse** et la dénomme **Protéine PrP** (Protease Resistant Protein) ; mais ce n'est qu'en **1982**, qu'il achève sa purification et lui attribue le nom de **Prion** (Proteinaceous Infectious Particle) [1,18].

"L'affaire de la vache folle" éclate le 20 mars 1996 en Grande Bretagne

Ce mystérieux prion, doit sa triste célébrité à l'**une des plus graves crises de sécurité alimentaire**, ayant touché l'Europe : « **L'affaire de la vache folle** ». Cette crise a éclaté **le 20 mars 1996**, lorsque Stephan **Dorrell**, le secrétaire d'Etat britannique à la Santé, informe que dix personnes (de jeunes adultes), sont atteintes d'une **nouvelle forme de la maladie de Creutzfeldt-Jakob**, pathologie qui était surtout connue pour toucher des personnes âgées [2, 5, 7, 8].

Cette **nouvelle variante de la maladie de Creutzfeldt-Jakob** (V-MCJ ou N-MCJ) a fait à ce jour (janvier 2005) **157 victimes** (140 en Grande-Bretagne¹, 6 en France, deux en Irlande, 1 en Italie, 1 à Hong-kong, 1 aux Etats-Unis et 1 au Japon), contaminées par la **consommation de viande de bovins** atteints d'**encéphalopathie spongiforme bovine (ESB)**.

C'est en **octobre 1997** [19], que Moira **Bruce** (Edimbourg) apporte la preuve quasi certaine de la **transmissibilité de l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) à l'Homme**, chez lequel se développe la **nouvelle variante de la maladie de Creutzfeldt-Jakob** (V-MCJ).

Pour autant, rien ne permet encore de se prononcer sur l'ampleur future de l'épidémie chez l'Homme et on reste toujours dans une très grande incertitude, le microbiologiste anglais Stephen **Dealler** estimant que l'épizootie n'atteindra son apogée qu'entre 2010 et 2020.

Pour demeurer optimiste, espérons que l'avenir reste favorable à l'espèce humaine, mais aussi à nos animaux d'élevage, que ce soit les bovins, les ovins ou les caprins !

¹ Le nombre de cas déclarés en Grande-Bretagne du nouveau variant humain de la maladie de Creutzfeldt-Jakob (V-MCJ) était de 4 en 1995, 10 en 1996, 10 en 1997, 18 en 1998, 14 en 1999 et 28 en 2000, 16 en 2001, soit 127 confirmés (décédés) en juillet 2003. Selon Robert Will directeur de l'unité de l'université d'Edimbourg (12^{ème} Symposium International sur le VIH et les maladies infectieuses émergentes Toulon, mai 2002) le nombre de cas et de morts dus à la V-MCJ a augmenté avec le temps en Grande Bretagne jusqu'en 2000 et est maintenant semble t'il en diminution progressive.

2 • LES AGENTS TRANSMISSIBLES NON CONVENTIONNELS (ATNC) OU PRIONS ET LEURS MALADIES.

Les Prions et les Encéphalopathies Spongiformes Subaiguës Transmissibles (ESST): beaucoup de relations étroites, mais encore aucune certitude absolue.

Des arguments cliniques et épidémiologiques, apportés depuis **1996** [20], suggèrent assez fortement que les **prions** peuvent provoquer, dans les organismes où ils se multiplient, des **maladies dégénératives du système nerveux central** (SNC), toujours mortelles dénommées **Encéphalopathies Spongiformes Subaiguës Transmissibles (ESST)** frappant aussi bien **l'Homme** que de **nombreuses espèces animales** (ovins, caprins, cervidés, bovins, et même les carnivores comme les chats et divers félins).

Les **maladies à prions** (Protein Folding diseases) sont particulières, car **leur origine est à la fois infectieuse et génétique**. De plus, **elles peuvent être transmises au sein de la même espèce** (Homme-Homme par exemple) et dans certaines conditions d'**une espèce à l'autre** (par exemple selon toute vraisemblance de la Vache à l'Homme, voire au Mouton, où à la Chèvre [1, 2, 3, 6, 8, 9]).

Par ailleurs, toutes ces maladies ont en commun d'être **transmissibles**, de **ne pas provoquer de réactions inflammatoires** (au contraire des maladies infectieuses) et **il ne semble pas y avoir de réactions spécifiques du système immunitaire**².

La Tremblante du Mouton : une maladie d'origine mystérieuse

En Europe on connaît une maladie endémique, la **tremblante du Mouton** (ou de la Chèvre) depuis **1732** et les anglo-saxons la dénomment « **scrapie** » (to scrap = gratter). Son incidence peut encore atteindre 30 % dans certains troupeaux du Royaume-Uni (entre 5.000 et 10.000 cas de tremblante du mouton, sont actuellement recensés par an en Grande Bretagne sur un cheptel de 40 millions d'animaux) et elle affecte aujourd'hui tous les pays à l'exception de l'Australie et de la Nouvelle- Zélande, qui l'ont totalement éradiqué. En France la prévalence de la tremblante (ovins, caprins) concerne environ un animal sur 1000 (2003).

En France la production de viandes ovines est de 260.000 tonnes. Notre pays importe 160.000 tonnes, surtout en provenance du Royaume Uni, de l'Irlande, de l'Espagne et de la Nouvelle Zélande.

² Néanmoins, les **cellules dendritiques** (tissu lymphoïde) tout comme les **tissus nerveux périphériques** pourraient être impliqués dans la propagation des prions, de leur site d'introduction (intestin grêle par exemple au niveau des plaques de Peyer) jusqu'au système nerveux central [27^a]. Les équipes de C. **Weissmann** et A. **Aguzzi** [21^b] ont confirmé que la **réplication** et l'**accumulation des prions pathogènes** s'effectuent dans les **cellules dendritiques folliculaires (FDC)** de la **rate**. Les PrP^{res} sont ultérieurement transférés vers les **lymphocytes B différenciés**, qui sont les **transporteurs des prions pathogènes**, des organes lymphoïdes jusqu'au système nerveux central.

La tremblante du mouton n'est pas univoque, les signes cliniques dépendant de la souche de prion impliquée (plus de 20 souches décrites à ce jour).

Les animaux atteints sont incapables de coordonner leurs mouvements, finissent par ne plus tenir debout et meurent d'épuisement (cachexie).

En **1936** deux vétérinaires français, Jean **Cuillé** et Paul Louis **Chelle** [22], ont établi que cette **maladie dégénérative du cerveau** ou **encéphalopathie spongiforme** était causée par un **agent transmissible**, mais cette découverte restera longtemps ignorée !

C'est seulement en **1982** que l'Américain Stanley **Prusiner** [23] suggère que **l'agent causal** est une **protéine** qu'il dénomma **prion** (Proteinaceous Infectious Particle) ou encore **PrP** (Protease resistant Protein)[1].

Jusqu'à présent **aucun cas de transmission à partir de moutons atteints de tremblante n'a été décrit chez l'Homme**, mais il faut rester très vigilant, d'autant plus que **le mouton peut être contaminé par le prion bovin**. En fait le problème qui reste posé est de savoir, comment au départ, ces moutons ont été contaminés ? Il a été avancé que l'infection pourrait se transmettre grâce **à la persistance des prions dans la pâture**. L'infectiosité pourrait persister dans le sol, au moins pendant dix ans, ce qui pose un problème quant à la **sécurité de l'enfouissement des carcasses d'animaux malades** et a fait bannir l'utilisation de **protéines d'abats d'animaux** dans les **engrais**.

Fait étrange, il a été signalé en **avril 1996** par des chercheurs islandais une **transmission expérimentale entre le Mouton et la Souris**, du prion de la tremblante par des **acariens phytophages**, certains **insecticides organophosphorés** (généralement peu acaricides) comme le **Phosmet**, ayant été accusés de favoriser leur propagation [24^a,24^b,24^c], une hypothèse qui reste à vérifier !

En 1996, Mark **Purdey** [24^a] a émis l'hypothèse que les **traitements antiparasitaires dermiques** contre le **varon**³, à base en Grande-

Aucun cas décrit chez l'Homme de transmission à partir de moutons atteints de tremblante, mais les moutons contaminés par l'agent de l'ESB pourraient peut être le transmettre à l'Homme.

L'encéphalopathie spongiforme bovine : «maladie de la vache folle» serait transmissible à l'Homme, au Chat, au Mouton...

Les étonnantes hypothèses de Mark Purdey, fermier devenu scientifique sur les origines "non conventionnelles" des encéphalopathies spongiformes animales,

³ le varon regroupe des larves de mouches *Hypoderma bovis* et *Hypoderma lineatum*, parasitant en général les bovins et qui se développent dans le tissu conjonctif profond durant un cycle qui peut durer une année. Ce parasite amaigrit l'animal infesté et détériore le cuir, diminuant de ce fait sa valorisation.

Bretagne⁴ d'un **insecticide organophosphoré**, le **Phosmet**, pourrait avoir participé au démarrage de l'épizootie en Angleterre.

Fait étrange cet insecticide ne fut appliqué de façon intensive au **Royaume-Uni** qu'entre 1980 et 1990, période sensible durant laquelle démarra la maladie de la vache folle et il a été suggéré qu'il pourrait bien être incriminé dans la transmission de l'ESB mère-veau, hypothèse très critiquée par les vétérinaires britanniques.

Mark **Purdey** émis l'hypothèse [24c] que le **Phosmet**, qui se transforme dans l'organisme en un métabolite renfermant un **enchaînement phtalimido-N-méthylthiol** (schéma 1) doit intervenir comme un **puissant chélatant du cuivre**, oligoélément indispensable à l'activité biologique de la protéine prion normal (PrP^c), comme cela sera développé ultérieurement (page 23).

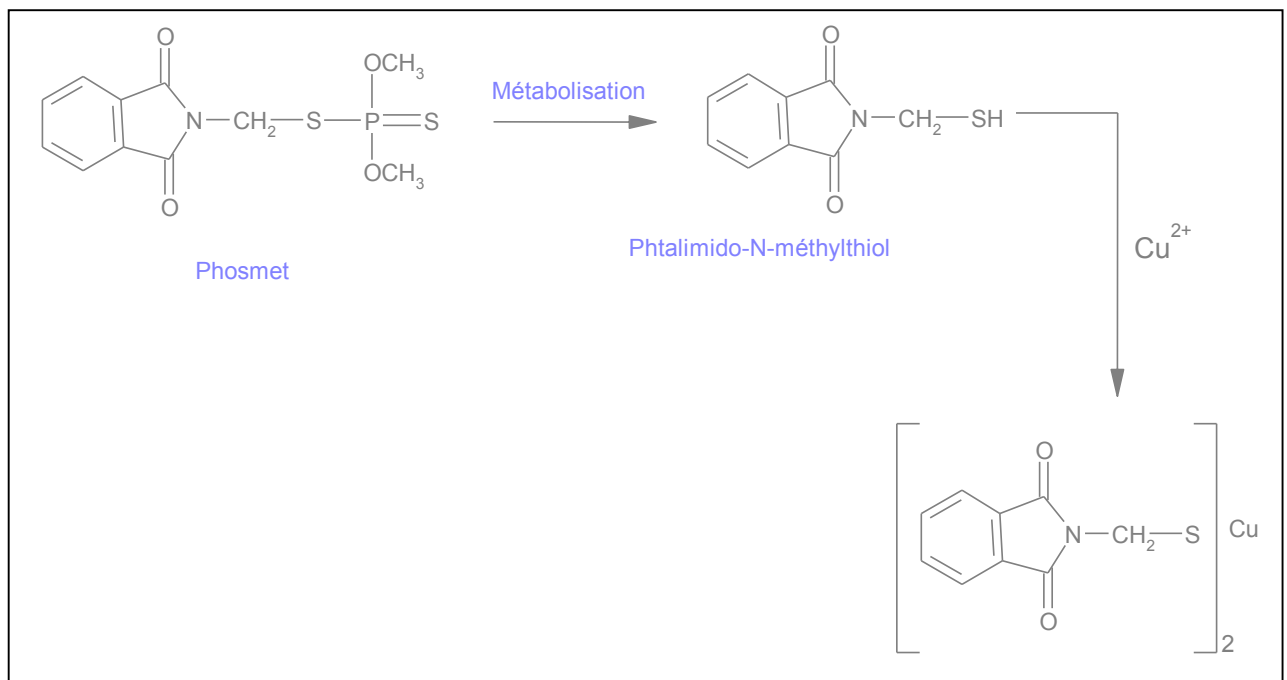


Schéma 1

Métabolisation du Phosmet en Phtalimido-N-méthylthiol, chélatant du Cuivre.

Selon le groupe de travail de l'European Union's Scientific Steering Committee (groupe de 6 experts européens dont Moira Bruce) le Phosmet pourrait avoir un rôle déstabilisant, entraînant une

⁴ En France, le traitement systématique des bovins contre le varon est essentiellement à base d'un endectocide non phosphoré, l'**ivermectine**, administré sous forme d'un bolus intestinal qui libère pendant 4 mois le produit actif à des doses très faibles, de l'ordre de 1 à 2µg/Kg. Cet insecticide naturel peu toxique pour les mammifères, se retrouve dans les bouses, lesquelles deviennent très toxiques pour les coléoptères coprophages (insectes vivant dans les excréments animaux) comme les **bousiers**. De ce fait, ces derniers désertent les bouses qui deviennent indestructibles durant de très nombreux mois.

sensibilisation des cellules nerveuses à l'action pathogène de la protéine prion anormale.

[Review of the origin BSE, 5 July 2001.

Site internet : <http://www.maff.gov.uk/animalh/bse/bseorigin.pdf>

C'est en **novembre 1986**⁵, qu'en **Grande-Bretagne**, fut identifiée pour la première fois l'**encéphalopathie spongiforme bovine (ESB)**, plus connue sous le vocable de « **maladie de la vache folle** » car elle se caractérise par une **modification du comportement des animaux** qui **deviennent agressifs et perdent leur coordination motrice** [1-14].

Cette encéphalopathie est quant à elle, univoque, la **durée d'incubation étant comprise entre 2,5 et 8 ans** et les signes cliniques très stéréotypés (nervosité, troubles de la motricité, de l'équilibre, de la sensibilité et amaigrissement). **La mort survient** le plus souvent **entre un à six mois** après le début des symptômes.

Les **lésions histologiques cérébrales** concernent surtout les **neurones** qui se vacuolisent donnant au tissu nerveux l'**aspect d'une éponge**, et qui progressivement dégénèrent et meurent .

Dès la fin de l'année 1987, John **Wilesmith**[1,4,9,12,14], responsable du service d'épidémiologie du Central Veterinary Laboratory, conclut que les **bovins avaient été contaminés** par des **farines de viandes et d'os** préparées à partir de **carcasses de moutons** (pour 15 %) et de **bovins**, dont certaines devaient renfermer des **prions pathogènes**.

Fait curieux, de **1960 à 1970**, il n'y avait pas eu en Grande-Bretagne de réelles contaminations, car les **farines alimentaires de ce type étaient, préalablement à la stérilisation (120°C), délipidées avec de l'hexane** [13,14]. Il est possible qu'un tel traitement déstabilise les **prions**. Ensuite, sous le gouvernement de Margaret **Thatcher** et ceci **par pure mesure d'économie**, en raison de sa **politique d'économie d'énergie** et de **déréglementation, cette délipidation fut supprimée, et surtout la température de chauffage diminuée (80-90°C)** [13.] Or depuis les années 60-70, on savait que les prions résistent par exemple à un **autoclavage à 120°C durant une heure** (seul un autoclavage à 135°C pendant au moins 18 minutes sous 3 bars, permet leur destruction totale, et encore s'il

Les bovins sont contaminés par des farines de viandes et d'os fabriquées à partir de carcasses animales et incorporées dans les aliments du bétail

Dans les années 80, en Angleterre, deux changements cruciaux dans le process de préparation des farines animales, d'une part la diminution de la température de chauffage (de 120°C à 90°C) et par ailleurs, la suppression du traitement dégraissant, ne vont plus permettre l'inactivation des prions pathogènes, rendant ainsi ces farines contaminantes.

⁵ Les premiers cas d'ESB sont déclarés entre avril et septembre 1985 dans le service de pathologie du Central Veterinary Laboratory de Londres, mais c'est l'équipe du vétérinaire anglais Gerald **Wells** qui la première en **1986** identifie la nouvelle maladie qu'elle nomma **Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE)**, découverte publiée en octobre **1987**.

s'agit de lots homogènes). Les économies d'énergie ne sont pas toujours rentables, si on oublie la santé humaine !

En fait au Royaume-Uni, **l'utilisation des farines animales dans l'alimentation des ruminants** (ce qui est en soi une aberration, car ce sont des herbivores), **introduite avant la seconde guerre mondiale** (peut être à partir de 1930), **fut interdite par le gouvernement de Margaret Thatcher partir du 18 juillet 1988** (entre **1986** et **2000**, **185.000 bêtes à cornes ont été touchées**, dont **60% dans le troupeau laitier** et sont mortes sur un cheptel de 11,5 millions de bêtes). Il s'agit en fait pour la première fois de l'application en grandeur nature du **principe de précaution** !

Par contre sous la pression du lobby agricole britannique, les fabricants de farines animales obtinrent un délai de cinq semaines pour écouler leurs stocks, qu'ils savaient pourtant contaminés ! Pour aggraver le tout, faute de contrôle suffisant, même après la date du 18 juillet 1988, les équarrisseurs britanniques continueront à approvisionner leurs fournisseurs [13], un bel exemple de "morale" économique ! Ceci pourrait expliquer les cas de contamination en **France** (surtout en **Bretagne**, dans les Côtes d'Armor), le premier cas ayant été détecté en **mars 1991** .

Actuellement en France **le dispositif global d'épidémiologie-surveillance⁶** comprend :

- a - **l'épidémiologie-surveillance clinique**, visant à repérer tout bovin vivant présentant des troubles neurologiques suspects.
- b - **l'épidémiologie-surveillance sur les bovins à risque**, réalisée sur des bovins de **plus de 24 mois** morts ou euthanasiés pour cause de maladie ou d'accident.
- c - **le dépistage systématique de l'ESB sur les bovins de plus de 24 mois** et présentés à l'abattoir en vue d'entrer dans la chaîne alimentaire humaine.

Au **1^{er} janvier 2005**, **le nombre total de cas confirmés depuis 1991** est de **952** (a=335 cas, b=396 cas, c=211 cas).

En France, on a observé dans un premier temps une augmentation régulière des cas d'ESB : 18 cas en 1998, 31 cas en 1999, 161 cas en 2000 et 274 cas en 2001. L'augmentation régulière des cas d'ESB entre 1998 et 2001 est difficilement compréhensible, d'autant plus qu'il s'agissait d'animaux dits « **naïfs** », c'est-à-dire nés

En France, avec 50 cas confirmés en 2004 la tendance à la diminution semble bien amorcée.

⁶ depuis 2002, la décroissance s'est bien amorcée : 137 cas confirmés en 2003 et 50 cas confirmés en 2004.

après l'**interdiction**, en **juillet 1990** en **France**, des **farines animales pour l'alimentation des bovins**.

Il pourrait peut être s'agir d'une **contamination croisée** entre des **farines pour ruminants** (interdites en France depuis 1990) et des **farines destinées pour les porcs et les volailles**, dont l'interdiction ne date que de novembre 2000. Ces contaminations croisées de farines de différentes origines pourraient avoir lieu au niveau de leur **fabrication**, de leur **transport** ou de leur **stockage**, d'ou la difficulté pour rechercher la réelle source contaminante.

En **avril**, puis en **mai 2001**, deux cas d'ESB ont été détectés chez des **animaux nés après juillet 1996**, date à laquelle une série de nouvelles mesures préventives concernant les farines carnées avaient été prises par le gouvernement. Ces animaux furent qualifiés de « **super naïfs** ».

La **contamination alimentaire** de ces animaux "**super-naïfs**", par l'intermédiaire de **lactoreplaceurs** (mélange de laits enrichis de graisses extraites de carcasses de bovins) a été avancée, comme une des possibilités de contamination.

Il faut espérer qu'il sera possible à l'avenir, de pouvoir expliquer le paradoxe des "naïfs et super-naïfs".

Comme l'indique le tableau 1, fin 2004, pratiquement tous les pays de l'Europe sont touchés par l'encéphalopathie spongiforme bovine.

Pays	Nombre de cas d'ESB	
	Total	En 2004
Irlande	1477	122
Portugal	944	82
France	942	50
Espagne	526	131
Suisse	456	3
Allemagne	363	65
Belgique	129	11
Italie	126	17
Pays-Bas	77	6
Pologne	20	11
Slovaquie	19	7

Dans l'Union européenne en plus de l'Allemagne (54→55) on observe entre 2003 et 2004, une augmentation du nombre de cas d'ESB en Pologne (5→11), en République Tchèque (4→6) et en Slovaquie (2→5)

Danemark	14	1
République Tchèque	15	7
Slovénie	5	2
Liechtenstein	2	-
Luxembourg	2	-
Autriche	1	-
Finlande	1	-
Grèce	1	-
Total	5043	442

Tableau 1

Nombre de cas D'ESB en Europe (hors Royaume-Uni) au 6 janvier 2005

(Source : Office International des Epizooties, http://www.oie.int/fr/info/fr_esbmonde.htm)

Pour **2001**, on observe une augmentation des cas détectés dans des pays comme **l'Allemagne** (+125), **l'Espagne** (+82) et **l'Italie** (+48), pays qui ont mis tardivement en place les tests de détection...

Le 10 septembre 2001 un premier cas de vache folle à été détecté chez un éleveur de Chiba au **Japon**; le cadavre de la vache contaminée par l'ESB ayant été utilisé à la mi septembre pour la fabrication de farines carnées, procédé qui était encore utilisé à l'époque ! En 2001, ce sont 3 cas qui ont été définitivement diagnostiqués, deux cas en 2002, 4cas en 2003 et 3 cas en 2004.

Le 4 juin 2002, le premier cas d'ESB a été détecté en Israël chez une vache de la région du Golan (les farines animales sont interdites en Israël depuis 1990).

Enfin au Canada, un cas d'une vache importée à été détecté en 1993 ; cas confirmé le 20 mai 2003, ce qui a l'époque a entraîné une grande émotion dans les pays nord-américains. Un troisième cas vient d'être confirmé en Alberta (Janvier 2005). Un cas a été confirmé en 2003 aux Etats-Unis.

Par ailleurs il faut certainement s'attendre à détecter d'autres victimes dans les pays ayant importé des farines animales britanniques (Malaisie, Indonésie...)

Sur la **figure 1** sont regroupées les années d'apparition (date officielle) du premier cas d'ESB diagnostiqué selon les différents pays européens [13].

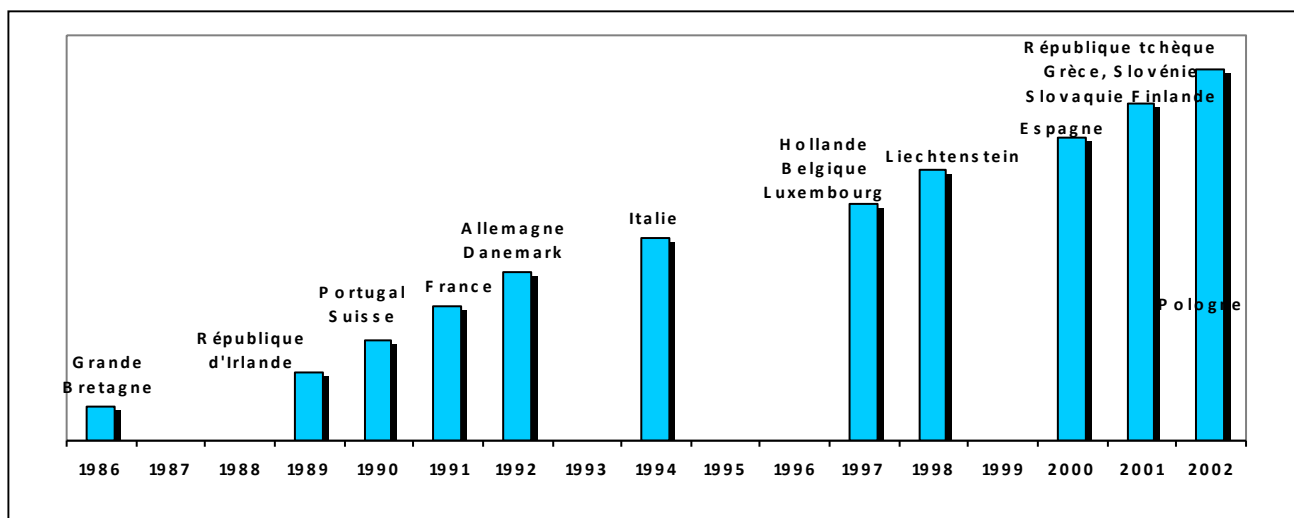


FIGURE 1

Année d'apparition du premier cas d'ESB dans les différents pays européens

Environ 900.000 bovins britanniques, en phase d'incubation potentielle de l'ESB, sont passés dans l'alimentation humaine de 1986 à mars 1996, sans pour autant susciter d'inquiétude chez les autorités sanitaires officielles.

On ne peut qu'être étonné du nombre de cas peu élevé observé (tableau 1) par rapport aux quantités de farines animales britanniques exportées (entre 1982 et 1996, l'ensemble des pays de l'Union européenne aurait importé 72.417 tonnes de farines animales britanniques, pour sa part la France en aurait importé durant cette période 47.890 tonnes).

On a estimé à environ **900 000**, le nombre de **bovins britanniques**, en phase d'incubation **passés avant mars 1996, dans l'alimentation humaine**, le **pic d'exposition** se situant **entre 1988 et 1989**... date d'écoulement intensif de lots de farines animales contaminées ! Selon les épidémiologistes anglais Christi Donnelly et Roy Anderson (Londres) il y aurait en fait deux à quatre fois plus d'animaux atteints... qui croire ?

Il est vraisemblable que selon les pays de l'Union Européenne, on observe une sous-déclaration, voire une non-déclaration des cas d'ESB... Faut-il y voir une inconscience inquiétante ou plus simplement une volonté délibérée de cacher la réalité ? Malgré tout il semble néanmoins, qu'une prise de conscience plus collective commence à gagner lentement l'Union européenne (tableau 1 et figure 1), même chez les nouveaux venus !

Il faut rappeler que les **farines pour le bétail** qui sont en général en cause sont constituées en majorité de **céréales** (400g/Kg) et de **tourteaux de soja** (200g/Kg), avec 30 à 50g de **farines de viande**.

Au départ cet apport complémentaire de farine d'origine animale nous a permis de limiter notre dépendance à l'égard des Etats-Unis, notre principal fournisseur en soja.

Par ailleurs les **sojas nord-américains** sont très controversés ⁷, car beaucoup sont **génétiquement modifiés**. Ceci signifie que **l'ajout de carcasses animales, correspond à un problème purement économique**. Ainsi Y. Montécot, Président du Syndicat national des industries de la nutrition animale, avait en 1999 calculé que le remplacement de ces farines animales par des tourteaux de soja coûterait à la France par an 3,5 milliards de Francs. Un manque à gagner qu'il jugeait à l'époque, certainement difficile à surmonter !

En France, les **arrêtés d'interdiction d'utilisation des farines animales britanniques ont été pris le 24 juillet 1990 pour l'alimentation des bovins, en juin 1994 pour celles des ovins et seulement en novembre 2000 (le 14 novembre) pour celles de la volaille, des porcs et des poissons d'élevage**.

Ceci n'a pas empêché, de janvier 1993 à mars 1996, l'importation en France, de 153 900 tonnes de farines animales britanniques ! La France a donc continué à importer des farines animales britanniques pour alimenter les volailles, les porcs, les poissons, sans compter les crevettes ! En ce qui concerne la France, jusqu'en novembre 2000, on peut considérer que les farines animales ont été largement utilisées pour la nourriture des volailles, des porcs et des poissons. Près de 80 % de cette production était absorbée pour l'alimentation des volailles, le reste se partageant entre la nourriture des porcs et des poissons d'élevage. Selon les espèces animales, ces farines représentaient alors 5 à 7 % de leur alimentation totale.

En ce qui concerne les poissons d'élevage en France, ils ne consomment plus de protéines animales ou de graisses d'animaux terrestres depuis mars 1996.

L'ajout aux farines pour le bétail, de carcasses animales, correspond à un problème purement économique, mais on ne peut que constater que le prix à payer pour cette dérive est sans commune mesure avec les bénéfices engrangés par les producteurs de ces farines.

⁷ En France, on utilisait dans les années 90-99 pour l'alimentation du bétail, 550 000 tonnes de farines animales, ce qui permettait d'économiser l'importation des Etats-Unis d'environ 800 000 tonnes de tourteaux de soja. La production annuelle de farines animales jusqu'à ces dernières années était d'environ 5 millions de tonnes, également répartie entre les Etats-Unis et l'Europe. En 1999 dernière année d'utilisation officielle en France des farines et graisses animales, les quantités consommées étaient les suivantes :

- 400 000 tonnes de farines de viandes dont 300 000 tonnes pour l'alimentation des volailles et 80 000 tonnes pour celles des porcs .
- 270 000 tonnes de graisses animales dont 130 000 tonnes pour les volailles, 80 000 tonnes pour les porcs et 60 000 tonnes pour préparer des aliments d'allaitement [62]

La majeure partie de leur ration alimentaire serait constituée de farines de poissons et de farines d'hydrolysats de plumes (source AFSSA).

Il faut néanmoins remarquer que les farines préparées à partir de poissons de la Mer du Nord ou de la Baltique peuvent être contaminées par des PCB (polychlorobiphényles) et des dioxines, sans oublier les métaux traces toxiques (plus communément, mais incorrectement dénommés métaux lourds) comme le mercure et le plomb.

L'origine exacte de l'agent de l'épidémie d'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) au Royaume-Uni n'est toujours pas établie. De nombreux spécialistes des encéphalopathies spongiformes pensent que l'ESB existait avant l'épidémie des années 90 et ceci sous forme endémique.

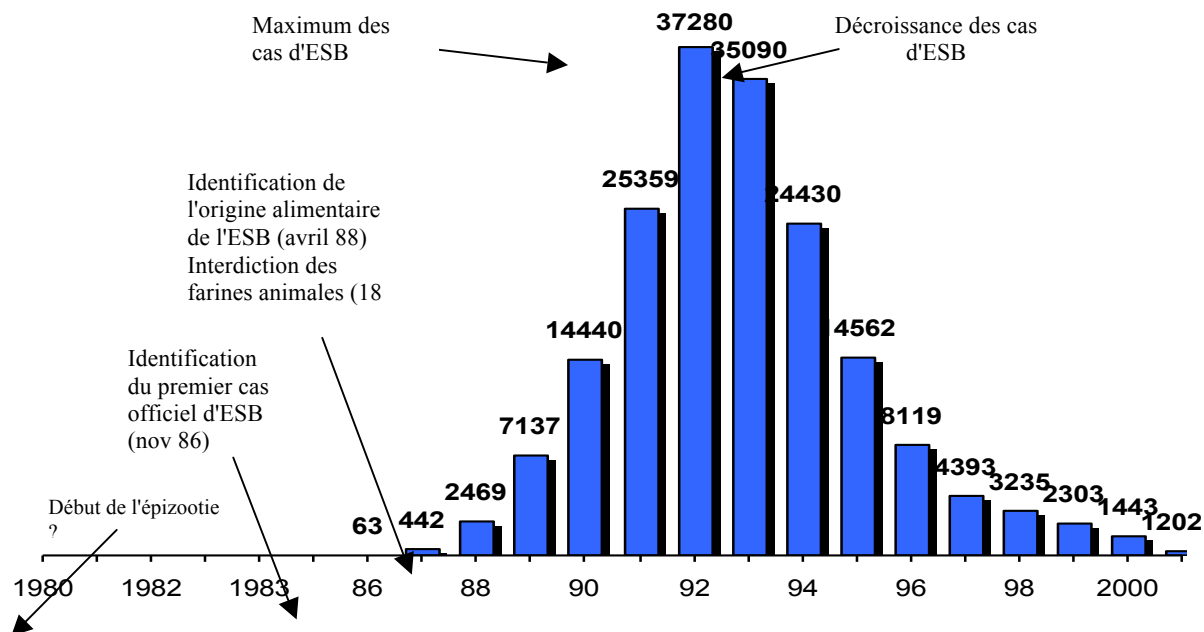
Pour ces scientifiques **l'ESB serait probablement apparue au début des années 70**, soit chez une vache ou chez un autre animal (un mouton ou un animal exotique) qui aurait développé la maladie, suite à une **mutation génétique**. En fait il est probable **qu'on ne connaîtra jamais l'origine exacte de l'apparition de l'ESB**.

Il semble vraisemblable que la maladie de la vache folle (ESB) sous sa forme d'épizootie, soit apparue dans le Sud-ouest de l'Angleterre (Sussex...) dans les années 70-80, peut être par suite de l'utilisation de lots de farines animales contaminées par un cas sporadique d'ESB, farines insuffisamment stérilisées, suite à un changement de process dans le chauffage de ces farines.

Par contre l'hypothèse de **l'amplification d'un prion bovin inconnu, multiplié grâce au recyclage des carcasses d'animaux malades (bovins, ovins) est tout à fait vraisemblable**. Ceci conforte l'hypothèse qu'il y a eu des **cas sporadiques d'encéphalopathie spongiforme bovine** bien avant 1985. Ainsi, un cas isolé fut décrit en France en 1883 par un vétérinaire qui à l'époque parlait de tremblante du bœuf ! De ce fait, des cas sporadiques de la maladie, alors inconnue, auraient pu passer inaperçus.

L'étude de **l'épizootie d'encéphalopathie spongiforme bovine au Royaume-uni, a bien mis en évidence, dès 1987, le rôle majeur des farines animales dans la transmission de la maladie et ceci dès les années 70 jusqu'en 1988**, date de leur interdiction (18 juillet 1988)[13]. **Cette épizootie est maintenant en déclin progressif**, une partie de la contamination actuelle étant peut être liée à une **transmission verticale** de la **vache au veau** (passage in utéro ?), contamination évaluée à environ 10 %, ou plus vraisemblablement à une **transmission environnementale** d'origine inconnue (par exemple les bouses dans les prairies).

Comme indiqué sur la **figure 2** , en **Grande Bretagne** la **décroissance** du nombre annuel de cas d'ESB, s'est amorcée en **1993**, mais 1443 cas avaient encore été détectés en 2000, 1202 cas en 2001 et 1144 cas en 2002, 612 cas en 2003 et 242 en 2004. Espérons qu'en 2010, on n'observe plus aucune vache folle ni de moutons



A quand, l'extinction de l'épizootie de la vache folle ?
Peut-être pas avant 2010-2020 !

tremblants, porteurs du prion bovin.

FIGURE 2

Nombre annuel de cas d'encéphalopathie spongiforme bovine en Grande-Bretagne

(Source: Office International des Epizooties, Atlanta et BSE Enforcement bulletin janvier 2005. Site internet : <http://www.oie.int>)

Certaines modélisations mathématiques prévoyaient une **extinction de l'épizootie de la vache folle aux alentours de 2002**. En fait, avec 242 cas en 2004 **rien n'est certain**, car **on ignore totalement comment dans la réalité, va maintenant se propager la maladie chez les bovins, voire chez les ovins et combien d'humains pourraient être contaminés...** un dilemme très inquiétant !

Il semblerait qu'en Grande Bretagne, le nombre de décès humains par la variante N-MCj soit depuis 2001 en régression (28 décès en 2000 pour **16** décès en 2004).

L'incertitude est d'autant plus renforcée, que le paramètre essentiel qu'est le **temps de latence entre l'infection et le début des signes cliniques est actuellement totalement inconnu pour ce type d'épidémie.**

La **contagiosité** des **ovins** est beaucoup plus importante que celle des bovins, car **les ovins sont très sensibles au prion pathogène de l'ESB** et ceci par **voie orale**. L'agent de l'ESB conserve ses propriétés pathogènes après être passé chez le mouton, ce qui implique que les produits (abats, viandes) contaminés par l'ESB soit potentiellement dangereux pour l'Homme. Pour l'instant, le Comité Directeur Scientifique européen (Bruxelles) n'a pas confirmé la preuve de la présence des prions bovins chez les ovins et leur transmission à l'Homme. Si une telle possibilité de contamination (bovin \square ovin \square Homme) se confirmait, l'impact sur l'opinion publique et les conséquences économiques seraient catastrophiques et ceci à l'échelle mondiale.

Il a été confirmé que le **Mouton**, la **Chèvre**, le **Chat** et quelques espèces sauvages **peuvent être contaminés** par une **nourriture** à base de **farines d'os et de viande de carcasses de bovins**, atteints de la maladie de la vache folle [13].

Chez une chèvre abattue en 2002 (Alès, Gard) a été confirmé par l'expérimentation animale (injection intracérébrale chez la Souris) en janvier 2005, la présence d'un prion pathogène, très proche de celui responsable de l'ESB.

Selon toute vraisemblance la contamination des petits ruminants (ovins, caprins) doit aussi s'effectuer par des farines animales contaminées.

Au contraire des bovins, chez les ovins et les caprins, l'infectiosité est beaucoup plus diffuse, car elle se propage par le sang et le système lymphatique.

D'où l'inquiétude quant à l'éventuelle infectiosité des viandes et du lait, en provenance de ces petits ruminants, interrogation auxquelles il faudra rapidement apporter une réponse.

Ainsi chez les **félins** (chat, guépard, lion, puma...) 90 cas d'**encéphalopathie spongiforme féline** (ESF) ont été décrits, la plupart chez les chats en Grande-Bretagne. Par ailleurs, deux cas d'ESF ont été détecté chez le chat en Suisse (juillet 2001 et août 2003).

Chez l'Homme, quatre types d'encéphalopathie spongiforme subaiguës transmissible (ESST) sont actuellement décrits.

Il existe plusieurs variétés d'encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles chez l'Homme (ESST).

Le Kuru : Une encéphalopathie spongiforme humaine, limitée à une peuplade de Nouvelle-Guinée et liée à des rites anthropophages.

Le **Kuru** touchait les Fore, peuplade de Nouvelle Guinée-Papouasie, contaminée lors de rites funéraires par la **consommation du cerveau** de leurs défunts (mais aussi par contamination cutanée, lors d'incisions de la peau durant la préparation du repas funéraire) et **concerne presque exclusivement les femmes et les enfants**, seuls **consommateurs des viscères** (décès entre 3 à 6 mois) . Les troubles nerveux observés sont proches de ceux de la tremblante du mouton : perte de la coordination des mouvements et démence (en dialecte Fore, « Kuru » signifie « tremble de froid et de frayeur »)[7, 12, 13].

En 1963, le chercheur américain Carleton **Gajdusek** - prix Nobel en **1976** pour ses travaux sur le **Kuru**, qu'il a décrit pour la première fois en **1957**, alors que cette maladie semble être apparue vers 1900 - **réussit à transmettre cette maladie à un chimpanzé, démontrant ainsi la présence d'un agent infectieux**. Il mit aussi en évidence que des **facteurs génétiques** semblaient essentiels pour la transmission humaine [7].

Un papou, mort en 2004, aurait été infecté dans les années 1960, soit une quarantaine d'années d'incubation.

Le **Kuru** a, en final, **tué plus de 3000 personnes** sur une population d'environ **30.000 papous**. Comme le signale Jean Philippe **Deslys**, l'origine de cette épidémie peut être un **cas sporadique de la maladie de Creutzfeldt-Jakob** [26].

Le **Syndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker** (SGSS) décrit pour la première fois en 1936 et l'**Insomnie Fatale Familiale** (IFF) signalée en 1992, sont **deux maladies héréditaires** très rares, dues à des **mutations dans le gène du prion**, et qui apparaissent vers 50 ans, avec une issue fatale rapide (de quelques semaines à quelques mois) [1,2,5,6,8,9].

La quatrième maladie, de loin la plus connue, est la **maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ)** décrite en Allemagne en **1920-1921**, et dont l'incidence est assez rare, car elle touche environ une personne sur un million (âge moyen 65 ans) [1-13].

Dans sa forme classique cette maladie est une **démence profonde, d'évolution rapide** (décès en moyenne dans les 6 mois) associée à des

Le syndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker et l'Insomnie Fatale Familiale sont deux maladies nerveuses humaines, très rares, dues à des mutations du gène du prion.

La Maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ): une encéphalopathie spongiforme humaine encore très mystérieuse et qui touche une personne âgée (en moyenne 65 ans) sur un million d'individus

troubles de la motricité. Fait assez rare pour ce type de neuropathologie, la fréquence est la même dans les deux sexes.

Si dans la **maladie de Creutzfeldt-Jakob**, environ **85%** des formes sont d'**origine inconnue**, pudiquement surnommées « **sporadiques** », il y a environ **10 %** des cas qui sont **héréditaires** (mutation du gène PRNP)[27]. Ainsi, il existe des foyers géographiques de la maladie de Creutzfeldt-Jakob, liés par exemple à une mutation au niveau du codon 200 chez des juifs d'origine libyenne en Israël ou en Slovaquie.

Plusieurs cas de MCJ transmis accidentellement, principalement après administration, d'hormone de croissance, extraite d'hypophyse humaine de patients atteints de la maladie de Creutzfeldt-Jakob.

Par ailleurs, plusieurs cas ont été transmis accidentellement, par exemple lors de **greffes** (cornée, tympan et surtout dure-mère) ou à la suite d'**administration d'hormone de croissance extraite d'hypophyse de patients contaminés, extraits qui ne furent pas inactivés.**

Sur les 120 cas décrits dans le Monde, consécutifs à un traitement contre le nanisme, plus de la moitié sont apparus en France (96 cas sur 980 patients traités, dont 81 sont décédés)...un bien triste record [13, 26^b] !

Le scandale de l'hormone de croissance a éclaté en France en 1991, alors que la contamination remonte au milieu des années 1980, et que dès 1985, les scientifiques avaient mis en évidence l'implication des lots d'hypophyse humaine contaminée.

En juin 2001 Pascale Fachain est décédée à l'âge de 30 ans de la maladie de Creutzfeldt-Jakob. Elle était traitée avec de l'hormone de croissance depuis l'âge de 14 ans. Sa famille a assigné en responsabilité l'Institut Pasteur de Paris et l'Association France-Hypophyse qui le 9 juillet 2002 ont été reconnus coupable par le tribunal de grande instance de Montpellier. Il faut remarquer que depuis dix ans, une instruction est en cours à Paris et a donné lieu à la mise en examen d'une dizaine de personnes dont Fernand Dray, ancien responsable de la fabrication des hormones à l'Institut Pasteur et Jean Claude Job, ancien président de l'association France-Hypophyse (Liquidée en 1997). Selon, Yves Bot procureur général près de la cour d'appel de Paris, le procès devrait démarrer fin 2005, douze personnes étant mise en examen pour homicide involontaire.

Globalement la **contamination par apport iatrogène** serait de l'ordre de **11% des cas.**

Toutes ces **maladies à prions** sont particulières, car, comme cela a déjà été souligné, **leur origine est à la fois infectieuse et génétique.**

En effet, **10 à 15% des cas de la maladie de Creutzfeldt-Jakob et la quasi-totalité des cas de syndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker et d'insomnie fatale familiale sont d'origine génétique**, terme à ne pas confondre avec celui de type familial, car par exemple, dans le premier cas près des deux tiers de patients n'ont aucun parent atteint de la maladie de Creutzfeldt-Jakob [28].

D'après Annick **Alpérovitch** (U360, INSERM) entre **1992**, date de la mise en place d'un **registre national des cas de maladie de Creutzfeldt Jakob** et le **1^{er} octobre 2001**, dernière période pour laquelle on dispose de statistiques, **773 cas** des différentes **encéphalopathies spongiformes transmissibles humaines** ont été observés en France. Près de 80 % sont des formes sporadiques, 11% des formes iatrogènes et 9 % des formes génétiques. Le taux d'incidence nationale est en France d'environ 1.4 par million, ce qui correspond à la moyenne européenne.

Dans le cas de la maladie de Creutzfeldt-Jakob il existe plusieurs sous-types de prions pathogènes.

Il existe dans la **maladie de Creutzfeldt-Jakob plusieurs sous-types** (ou profils) de **prions pathogènes** mis en évidence par leur différence de mobilité électrophorétique, liée à leur **poids moléculaire** et à leur **taux de glycosylation** (pourcentage de glucides fixés sur la protéine).

Deux de ces profils concernent les formes sporadiques, qui sont les plus courantes, (profils 1 et 2), le troisième ayant été trouvé chez des malades contaminés par voie iatrogène (greffes, administration d'hormone de croissance ou d'hormone gonadotrope).

La protéine pathologique humaine V-MCJ présente les mêmes caractéristiques biochimiques que son homologue retrouvé chez les animaux infectés expérimentalement ou naturellement par l'agent de l'ESB.

Le quatrième type de prion (V-MCJ) a été identifié en Grande Bretagne par John **Collinge** (octobre 1996) chez un des 15 jeunes adultes (âgés en moyenne de 29 ans) contaminés, selon toute vraisemblance, par la **consommation d'abats provenant de vaches folles** [30].

Cette **nouvelle forme de maladie de Creutzfeldt-Jakob** se caractérise, en plus du **jeune âge des victimes** (en moyenne 29 ans), par une **période d'incubation allongée**, des **signes cliniques différents** (prédominance des signes cérébelleux) et la formation de

nombreuses **plaques amyloïdes** constituées de **PrP^{res}** (res : pour résistante aux protéases) dans le **cerveau** et le **cervelet**. En général cette nouvelle forme dure au moins six mois et la mort survient en moyenne 13 mois après le début des symptômes [29].

Pour la première fois, il fut donc mis en évidence qu'une **protéine pathologique humaine (V-MCJ)** associée à l'infectiosité et résistante à la protéase K, présentait les mêmes caractéristiques biochimiques (même migration électrophorétique, même pourcentage des différentes formes glycosylées) que son homologue retrouvé chez les animaux infectés expérimentalement ou naturellement par l'agent de l'ESB [29].

Il faut remarquer que c'est l'**apparition de la nouvelle variante de la maladie de Creutzfeldt-Jakob**, annoncée par le **Secrétaire d'État à la Santé du Royaume-Uni le 20 mars 1996** qui a déclenché la **crise de la « vache folle »**, et qui a apporté de sérieux arguments pour **une transmission par voie alimentaire** (surtout par **les abats de type cervelle**) de l'agent de l'encéphalopathie spongiforme bovine subaiguë à l'Homme.

Compte tenu de la **période d'incubation chez l'Homme**, qui doit se situer entre **15 et 20 ans**, voire plus (30 ans ou plus), il est actuellement très difficile de prévoir l'évolution de cette nouvelle maladie.

Selon les **prévisions** du groupe d'épidémiologie de l'Ecole d'Hygiène et de Médecine Tropicale de Londres, dirigé par Jérôme **Huillard d'Aigneaux** (Médecine-Science, Novembre 2002 p 1081-1088), le nombre de victimes en Grande Bretagne devrait se situer entre 250 et 40.000 cas, les chiffres les plus probables se situant **entre 500 et 2.000 victimes**. Selon ce groupe d'experts le risque d'une véritable épidémie semble donc peu probable.

En partant de l'hypothèse que la période d'incubation de la V-MJC serait de dix sept ans, l'équipe de **Jacques Valleron** (INSERM, Paris) prévoit que **la nouvelle variante de la maladie de Creutzfeldt-Jakob touchera au total entre 200 et 400 personnes au Royaume Uni** (Science, p 1726 et 1663 du 23 novembre 2001).

Néanmoins il serait prudent d'attendre encore quelques années pour avoir des arguments prévisionnels plus étayés, car on compte déjà 140 cas en Grande Bretagne (d'octobre 1995 à janvier 2005).

L'évolution de la nouvelle variante de la maladie de Creutzfeldt-Jakob (V-MJC) semble très difficile à prévoir. En Grande-Bretagne on observe depuis 2001 une diminution du nombre de décès dus à la V-MCJ.

3 • LE PRION NORMAL PrP^C : UNE PETITE GLYCOPROTÉINE À LA SÉQUENCE ENTRE ESPÈCES ANIMALES BIEN CONSERVÉE

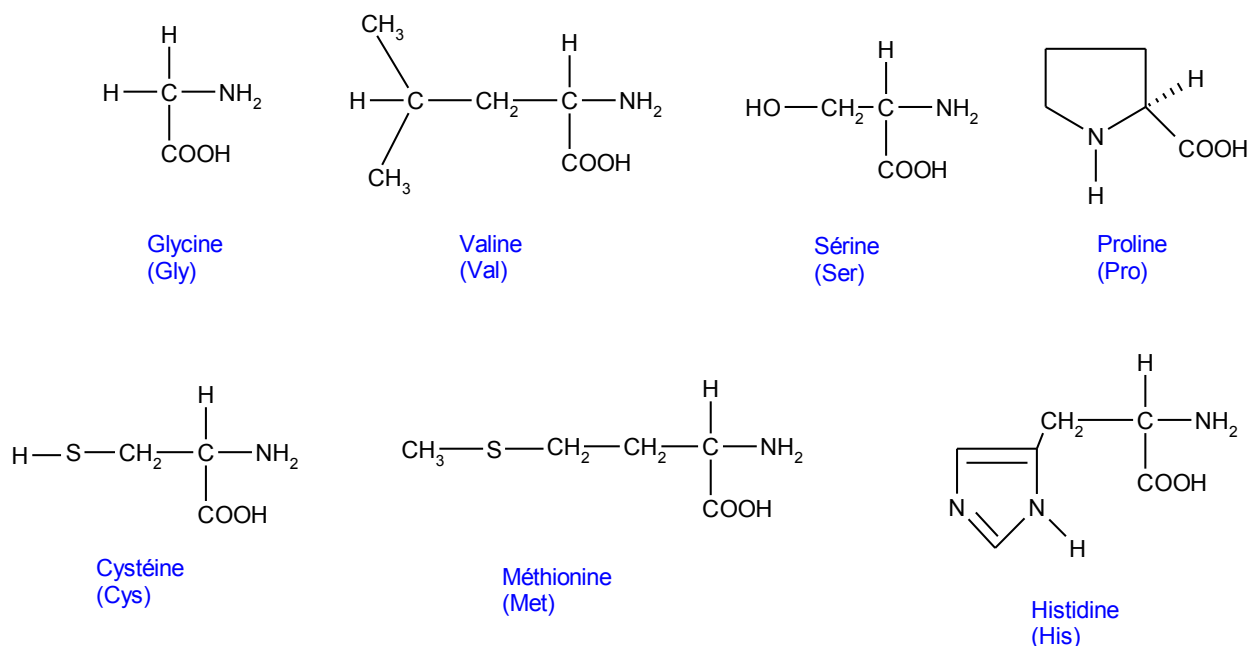
Le prion normal PrP^C, une protéine du soi, dont la séquence est bien conservée au cours de l'évolution.

La **protéine prion** de l'individu normal non contaminé ou **PrP^C** (c pour cellulaire) est une **glycoprotéine** (PM = 33 à 35 kDa, selon le taux de glucides). Cette isoforme est constituée chez l'Homme, d'une **chaîne polypeptidique** de **253 acides aminés** (254 chez la Souris), dont la séquence est connue depuis 1986.

Elle est bien conservée au cours de l'évolution, car son **degré d'homologie** entre espèces est le plus souvent **supérieur à 85 %** [1, 6, 13, 31].

Dans la structure de la **protéine prion** PrP^C, on retrouve un **peptide signal** (SP) hydrophobe de 22 acides aminés dans la région amino-terminale, qui est clivé lors de la biosynthèse, après l'entrée dans le réticulum endoplasmique rugueux (RER). Le peptide signal permet la translocation de la protéine dans le RER. Dans cette région on trouve une répétition de **5 octapeptides** de séquence consensus PHGGGW cette région qui contient notamment des restes **histidine** peut se lier entre 4 à 6 atomes de cuivre. Un **site de clivage** (site □) semble exister dans cette région octapeptidique.

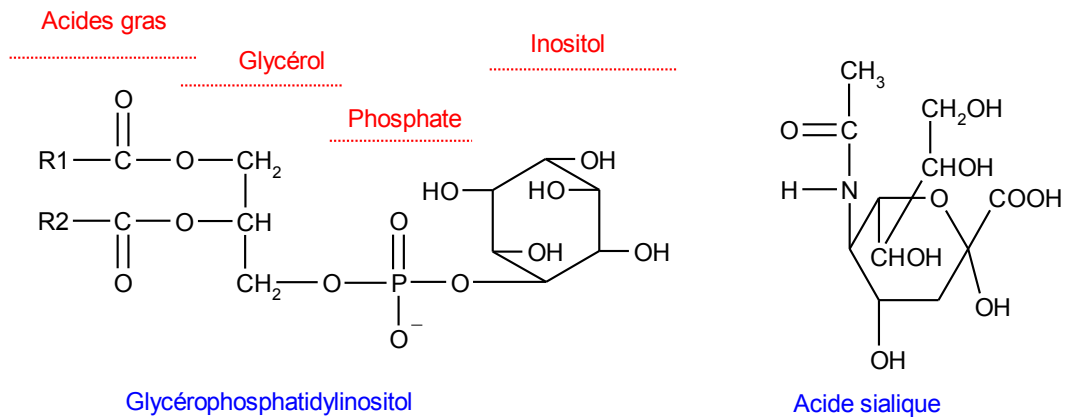
Ensuite on trouve une **partie G-P** comme indiquée sur la Figure 3 et qui correspond à une région riche en motifs **Glycine-Proline**.



Principaux Acides-aminiés rencontrés dans la protéine Prion.

Le PrP^C présente dans sa structure secondaire une majorité de structures en hélice alpha

La suite de la séquence comporte une région dite **96-112 STE** (Stop Transfer Effector) supposée **contrôler la topologie de la protéine**, et qui semble jouer un rôle important dans le **changement de conformation** dans le passage PrP^c à PrP^{res}. Dans cette région hydrophobe (hélice \square) très concernée on trouve aussi un **site de clivage** entre les acides aminés 111 et 112. On localise ensuite une **région transmembranaire** (région **TM**) et enfin, une **zone** qui contient **trois structures en hélice alpha** (H₁ à H₃) et une zone de **feuillet bêta** ⁷. Ces structures sont reliées entre elles par des boucles polypeptidiques. Les **cystéines 179** et **214**, liées par un **pont disulfure** (-S-S-), contribuent à former une boucle sur laquelle se situent **deux sites de glycosylation** (sites CHO, au niveau des asparagines 181 et 197 sur la figure 3). Enfin la **sérine 231** est liée à un enchaînement **glycophosphatidylinositol (site GPI)**, qui permet à la protéine PrP^C de s'ancrer sur la face externe de la membrane plasmique cellulaire. Fait surprenant, la PrP^C est la première protéine dans laquelle la **partie d'ancrage GPI** est constituée principalement d'**acide sialique**.



Schématiquement la structure de la protéine prion normal PrP^C peut être représentée comme l'indique la figure 3

⁷ Les protéines ont la propriété de se replier sur elles-mêmes de différentes manières, soit en hélice (structure alpha) soit de manière plissée, en feuillet (structure bêta).

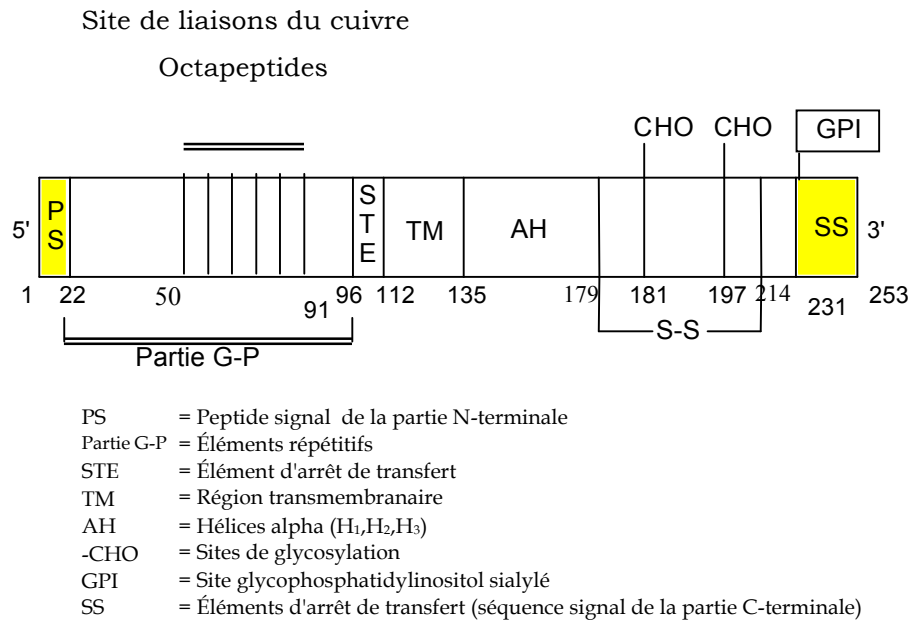


FIGURE 3
Structure schématique de la protéine native prion PrP^C humaine

En résumé, la protéine prion humaine, formée initialement de 253 acides-aminés, subit dans la cellule une maturation correspondant à l'élimination d'abord d'une séquence signal N-terminale (22 acides-aminés) puis d'une séquence signal C-terminale (23 acides aminés) aboutissant ainsi à la PrP^C constituée en final de 209 acides aminés.

Les données sur la **structure tridimensionnelle de la protéine Prion** des **mammifères** ont été jusqu'à présent obtenues grâce à la **spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (RMN)**.

Ainsi par **spectroscopie RMN**, Kurt **Wüthrich**⁹ et ses collaborateurs de l'Institut de Biologie moléculaire et de Biophysique de Zurich, ont déterminé la **structure tridimensionnelle du prion normal (PrP^c)**, d'abord celle **de prion de la Souris** (1996) [36^a, 36^b, 57] puis celle du **prion de l'Homme** (Janvier 2000) et celle du **prion bovin** (février 2000) [36^d]. De son côté, Stanley **Prusiner** a déterminé la structure du **prion de l'Hamster** (1996).

Ces analyses par RMN mettent en évidence que les **prions bovin et humain** ont une **structure spatiale très proche**, ce qui permettrait leur **transmission** assez facile **d'une espèce à l'autre**.

Par contre les **prions de la Souris** ou de **l'Hamster** ont des silhouettes un peu différentes de celles des prions bovin et humain.

⁹ Le 9 octobre 2002, Kurt Wüthrich a reçu avec John Fenn et Koichi Tanaka, le prix Nobel de chimie.

La structure tridimensionnelle du prion de différentes espèces (Souris, Hamster, Bovins, Homme) a pu être déterminée par RMN.

D'une manière générale, la **RMN** montre que la **protéine prion normal** PrP^c de **mammifères** possède **deux parties bien distinctes**. Une **première partie compacte**, plutôt sphérique, est constituée d'une **centaine d'acides-aminés** (des acides-aminés 121 à 230 dans le prion bovin) regroupés sous forme de **trois hélices alpha** et d'un court **feuillet bêta**.

L'analyse spectrale par RMN du prion normal (PrP^c) permet de distinguer une partie compacte comportant trois hélices alpha et un court feuillet bêta. La seconde partie correspond à une longue chaîne polypeptidique qui peut fixer du cuivre.

La **seconde partie**, de **taille à peu près identique** (des acides aminés 23 à 121 dans le prion bovin) est **entièrement flexible et dynamique**, changeant constamment et rapidement de forme.

Cette **queue flexible**, qui **peut fixer des ions métalliques divalents** comme les **cations cuivriques** (Cu²⁺) et avec une affinité moindre pour le zinc (Zn²⁺) et pour le manganèse (Mn²⁺) peut entrer en contact avec d'autres protéines prion et former ultérieurement des dimères puis des polymères de prions pathogènes (PrP^{Pres}).

Par **modélisation moléculaire**, l'équipe suisse de Ralph **Zahn** (Zurich) [57] a mis en évidence, qu'à sa **surface**, la **protéine prion bovine PrP^c** présente sur un site une **charge négative**, ce qu'on n'observe pas sur le prion humain. Cette **différence de charge électrique de surface**, pourrait expliquer, au moins en partie, la barrière d'espèce qui protège partiellement l'Homme de l'ESB.

Dès **1997**, David **Brown** de l'Université de Cambridge [38^a] mis en évidence que dans la **protéine prion normal (PrP^c)**, la **partie N-terminale** avait la capacité de **fixer** fortement quatre à six **ions cuivriques** (Cu²⁺) grâce à une **motif répétitif de 8 unités** riche en **histidine**. De ce fait, le cuivre pourrait contribuer à l'acquisition d'une structure tridimensionnelle fonctionnelle de la protéine prion normale PrP^c. Il a été avancé que la protéine PrP^c pourrait, ainsi jouer un rôle important dans la **métabolisation du cuivre**, au niveau du **cerveau**, en particulier dans le **transport** et le **stockage** de cet oligo-élément [38^b].

Le prion fixe les ions Cu²⁺ et pourrait jouer un rôle dans la biodisponibilité cérébrale du cuivre et intervenir comme agent anti-oxydant protecteur.

Le **prion** ayant fixé du **cuivre** (surtout dans sa partie N-terminale et secondairement dans sa partie C-terminale) présente une **activité anti-oxydante** proche de celle des **superoxyde-dismutases** (SOD), métalloprotéines cellulaires très importantes, pouvant renfermer divers métaux (Cu, Zn, Fe, Mn et même Ni chez certaines bactéries). Le prion PrP^c présente donc in vivo une activité SOD-like qui serait dans les conditions physiologiques dépendantes du cuivre et éventuellement du zinc.

Ces enzymes localisées dans le **cytoplasme** ou dans les **mitochondries** ont pour rôle principal de transformer l'**anion-superoxyde** ($O_2^{\cdot-}$) premier produit de la **réduction à un électron** du **dioxygène** ($O-O$) en **peroxyde d'hydrogène** ou **eau oxygénée** (H_2O_2). Ce peroxyde d'hydrogène doit à son tour être réduit soit par la **glutathion-peroxydase** ou **SeGpX** (enzyme à **sélénium**) soit par la **catalase** (peroxydase à fer) afin d'éviter l'initiation d'un **processus d'agression oxydante**. Selon David **Brown** [38^b,42^b], le **prion normal** ayant fixé du **cuivre**, fonctionnerait alors au niveau cellulaire comme une **superoxyde-dismutase**, protégeant ainsi la **cellule nerveuse** contre l'**action cytotoxique** du **prion pathogène** [38^b], comme indiqué sur le schéma 2 ci-après.

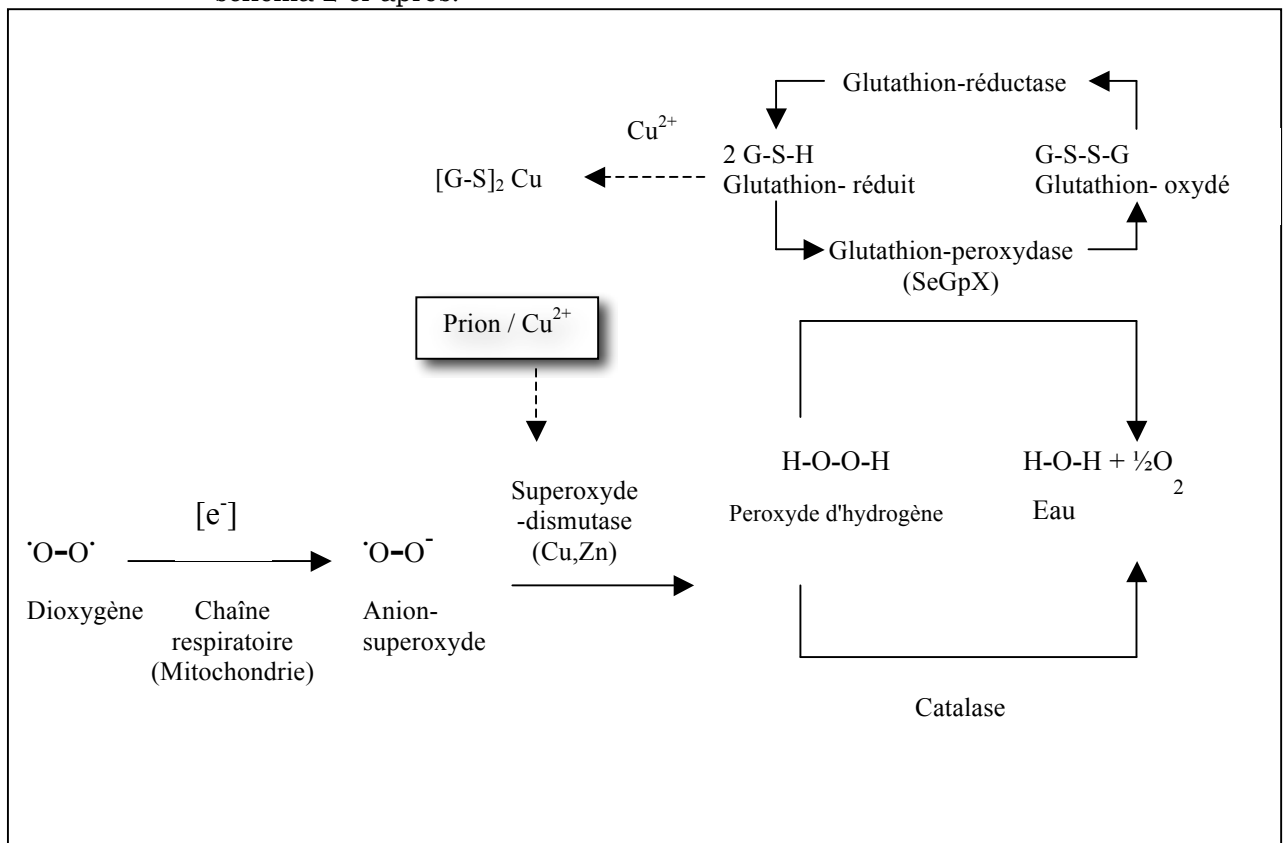


Schéma 2

Principaux systèmes de défense contre les produits de réduction mono-électronique du dioxygène dans les mitochondries. (Rôle présumé du prion à cuivre, fonctionnant comme une superoxyde-dismutase).

Il faut aussi remarquer que les **ions cuivriques** (Cu^{2+}) interviennent dans la constitution de la **glutathion-réductase**, enzyme très importante

qui réduit le **glutathion oxydé** (G-S-S-G) en **glutathion réduit** (G-S-H), comme indiqué sur le schéma 2.

Les neurones déficients en protéines montrent une activité réduite de la glutathion-réductase, ce qui augmente la cytotoxicité neuronale du peroxyde d'hydrogène.

Il semble de plus en plus probable qu'une **fonction importante de la protéine prion normal PrP^c** serait d'intervenir dans les **mécanismes de défense cellulaire** au **niveau neuronal** contre **l'agression oxydante**. Il y aurait libération au **niveau cytoplasmique** d'**ions cuivriques** qui seraient impliqués dans une **voie de signalisation anti-oxydante de défense**.

La **PrP^c** est codée par un **gène unique**, le **gène PRNP**, qui chez l'Homme est localisé sur le **chromosome 20**.

Le **gène PRNP** possède un **polymorphisme naturel** au niveau du **codon 129** qui ne peut coder que pour une **méthionine** (Met) ou pour une **valine** (Val). Or dans une protéine, **l'interaction de deux méthionines** ou de **deux valines** est souvent associée avec une **conformation** de type **feuillet bêta**.

Il semblerait donc que la **méthionine** ou la **valine** en **position 129** joue un **rôle important** en modulant l'interaction moléculaire entre deux isoformes de la protéine prion.

Dans la population générale, **49 %** des individus sont **homozygotes** (38 % Met/Met et 11% Val/Val) et **51 %** sont **hétérozygotes** (Met/Val).

Les **personnes homozygotes** (Met-Met ou Val-Val) ont un **risque** de **maladie de Creutzfeldt-Jakob sporadique, cinq fois plus élevé** que celui des **hétérozygotes (Met-Val)**. Si l'on compare les deux types d'homozygotie, le **risque de MCJ sporadique** pour les **personnes Met-Met** est **deux fois plus élevé** que pour les **personnes Val-Val**.

Dans la **maladie de Creutzfeldt-Jakob sporadique**, **68 % des personnes** atteintes sont **homozygotes (Met-Met)** mais chez les malades touchés par la **nouvelle variante de la maladie de Creutzfeldt-Jakob**, **100 %** sont **homozygotes (Met-Met)**, comme indiqué dans le tableau 2 ci-après.

La PrP^c est codée par un gène PRNP, localisé chez l'Homme sur le chromosome 20. Ce gène qui code pour la protéine prion normal, possède un polymorphisme naturel au niveau du codon 129, qui correspond au facteur de risque majeur dans les maladies de Creutzfeldt-Jakob

Type de maladie de Creutzfeldt-	Homozygote	Hétérozygote
---------------------------------	------------	--------------

Jakob			
%	Met-Met	Val-Val	Met-Val
Caucasien - Normal	38	11	51
Maladie de Creutzfeldt-Jakob sporadique	68	15	17
Maladie de Creutzfeldt-Jakob iatrogène	11	67	22
Nouvelle variante (V-MJC) de la maladie de Creutzfeldt-Jakob	100	-	-

Tableau 2

Influence du génotype porté par le codon 129

(D'après Nicole Le Douarin, Secrétaire perpétuelle de l'Académie des Sciences. La lettre de l'Académie des Sciences, n°1, p 6/2001) [56].

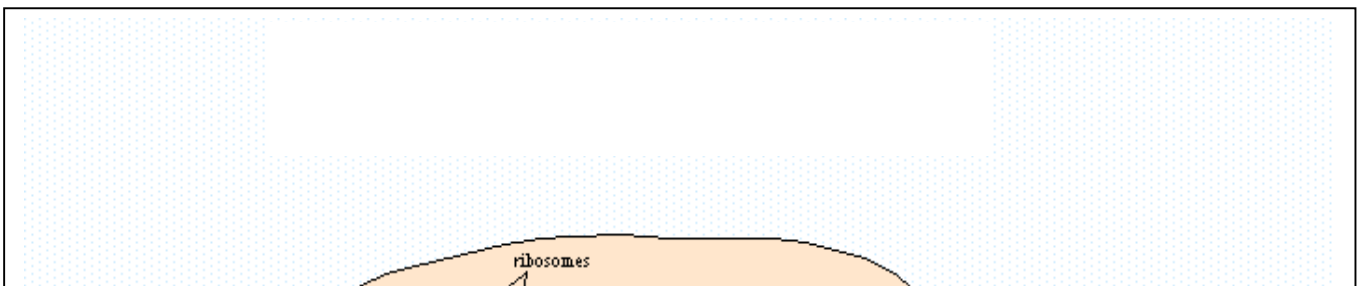
Dans les **maladies de Creutzfeldt-Jakob sporadiques**, l'**homozygotie 129 Met/Met** est un **facteur de susceptibilité à l'infection**. Par contre l'**hétérozygotie 129 Met/Val** a peut-être un **rôle protecteur**. De ce fait la **sensibilité d'un individu à une maladie à prions** apparaît être fortement sous **contrôle génétique**, comme du reste de nombreuses autres **maladies infectieuses**.

Le **prion normal** est synthétisé au niveau des **ribosomes** dans le **réticulum endoplasmique rugueux**, puis est modifié au niveau de sa partie glucidique dans l'**appareil de Golgi**.

Il est finalement transporté au niveau de la **membrane plasmique** où il **s'ancre sur la face externe** grâce à l'**enchaînement glycoposphatidylinositol (GPI)** (formule page 23).

La protéine **Pr^{PC}** est ensuite internalisée par **endocytose** dans une **vésicule d'endocytose** (endosome) puis dans un **endolysosome** où elle est **dégradée**, comme l'indique la figure 4 [26^b].

Le prion normal est synthétisé en quelques minutes dans les ribosomes du réticulum endoplasmique rugueux.



Membrane plasmique



JEAN PHILIPPE DESLYS

Figure 4

Cycle de la Protéine Prion Normal PrP^C dans une cellule eucaryote^[26^b].

Pour une part la protéine physiologique PrP^C est dégradée dans le cytoplasme au niveau des **protéasomes**.

La **protéine PrP^C** est formée dans presque tous les types cellulaires. Elle est principalement présente dans les **neurones** et à des concentrations beaucoup plus faibles dans les **cellules gliales** (cellules nourricières) du **système nerveux central** et dans **certaines cellules du système immunitaire**.

La **PrP^C**, est, **in vivo**, **synthétisée en quelques minutes** mais est **dégradée** par les **protéases** comme la **protéase K**. Sa **demi-vie est de 3 à 6 heures** et celle de la **PrP^{res}** est **de plus de 24 heures** (par exemple dans des cellules tumorales in vitro).

Les **fonctions physiologiques de la PrP^C** ne sont pas connues pour l'instant, mais un rôle dans la **transmission synaptique** est souvent invoqué [32]. Des travaux menés à l'Institut Pasteur et au CNRS montrent que la protéine prion participe au niveau neuronal à une

Les réelles fonctions physiologiques de la PrP^C sont actuellement inconnues, mais un rôle dans la transmission synaptique est souvent invoqué [21].

cascade de signalisations qui active une **enzyme tyrosine-kinase FYN**, impliquée dans la **régulation neuronale** [33].

Par ailleurs les structures secondaires et tertiaires de la PrP^C ne sont pas totalement établies par suite des difficultés à réaliser une analyse cristallographique précise sur les protéines PrP^C animales.

Pour l'heure, la seule protéine prion dont la **structure** a été déterminée au niveau moléculaire est la **protéine prion recombinante** (rPrP) produite par E.coli et repliée in vitro.

Le problème actuel est lié à la détermination de la nature exacte de l'agent infectieux. Pour certains, la **protéine mal repliée** est à elle seule l'**agent infectieux**; pour d'autres elle serait associée à un agent infectieux encore inconnu. En théorie, **le prion pourrait exister sous deux formes** liées à son **mode de repliement** (folding protein) : une **forme normale** la PrP^C et une **forme anormale** la PrP^{res}, qui a la possibilité, **lorsqu'elle est introduite dans une cellule de favoriser le mauvais repliement des formes normales** qui y préexistent [34].

4. LE PRION PATHOGENE PrP^{res} : UN CHANGEMENT DE CONFORMATION DU PRION NORMAL PrP^C

La PrP^C présente dans sa structure secondaire une majorité de structures en hélice alpha

Les **deux isoformes** du **prion** : la **forme normale (PrP^C)** et la **forme altérée** dénommée **PrP^{res}**, laquelle est fortement soupçonnée d'être **infectieuse**, possèdent une **composition identique en acides aminés**.

Par contre ces **deux isoformes** d'une même protéine, se différencient par leurs **structures secondaire** et **tertiaire** déterminées par l'**analyse spectrale** (Infra-rouge avec transformée de Fourier, Dichroïsme circulaire et surtout RMN).

Pour sa part, la **protéine prion normal PrP^C**, se replierait en une **structure compacte** formée d'une majorité (42 %) de **polypeptides** en **hélice alpha (trois hélices** dont une **paire d'hélices identiques)** avec un court fragment (3%) d'une **chaîne polypeptidique plissée bêta**.

Dans son modèle initial Stanley **Prusiner** avait proposé un modèle compact formé de **quatre hélices alpha** regroupées par paires [35].

Le prion pathogène PrP^{res} présente dans sa structure secondaire une majorité de chaînes plissées bêta (43 %) et ceci par suite de la transformation de l'hélice alpha isolée de la PrP^c en chaîne plissée bêta.

Par contre la **protéine modifiée PrP^{res}** possède une **majorité de chaînes bêta** (43 %) et ceci par suite de la **transformation de l'hélice alpha isolée** de la PrP^c en **chaîne plissée bêta**. Les **hélices alpha** ne constituent plus que **30 %** de l'ensemble polypeptidique comme l'indique la structure de la PrP^{res} de la figure 5.

En ce qui concerne le passage de la **protéine prion normal (PrP^c)** en **prion pathogène (PrP^{res})** le **changement conformationnel**, événement essentiel dans la **propagation** et l'**effet pathogène des prions**, rendrait la **PrP^{res}** beaucoup **moins soluble** et **partiellement résistante aux enzymes de sa dégradation**, en particulier à la **protéase K**.

C'est pour ces raisons que la **PrP^{res}** va pouvoir **s'accumuler à l'intérieur des cellules** en particulier dans les **lysosomes** (figure 4), et devient ainsi **toxique** pour les **neurones**. Les **prions mal repliés physiologiques** ou **pathologiques PrP^{sc}** peuvent aussi être dégradés dans les **protéasomes** tout comme le prion normal PrP^c.

C'est le **changement de conformation** entre des **structures en hélice α** et des **structures en feuillets β** , qui permet à la **protéine modifiée PrP^{res}** de **s'agréger** et d'**acquérir sa résistance à la protéase K**.

Ceci conduit à la **formation de fibrilles** et de **plaques amyloïdes**, que l'on décrit parfois au niveau du cerveau, comme cela est aussi observé classiquement avec d'autres protéines dans la **maladie d'Alzheimer**.

Le PrP^{res} peut s'agréger en formant des fibrilles et des plaques amyloïdes

5 • COMMENT LE PRION DEVIENT-IL PATHOGÈNE ?

Selon certains auteurs, **la transformation d'une hélice alpha en feuillet bêta jouerait le rôle moteur dans l'acquisition du pouvoir pathogène** [23], comme l'indique la figure 5.

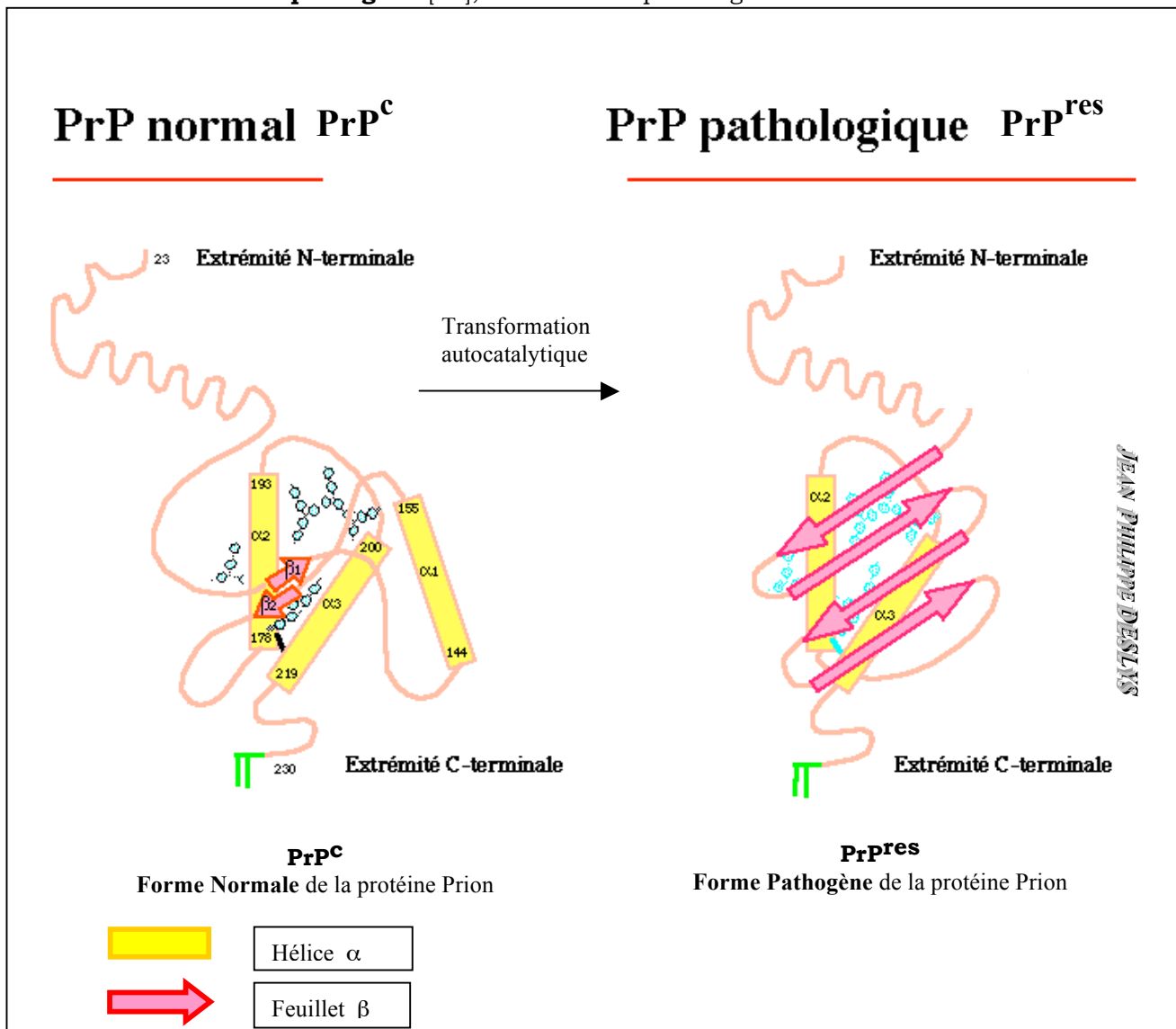


Figure 5

Modèle structural proposé par Stanley Prusiner [1^b] pour le passage du Prion PrP^C à sa isoforme pathogène PrP^{res}

La présence de la protéine normale PrP^C est indispensable à l'apparition de la neurotoxicité de la protéine pathogène.

Un élément très important pour comprendre la **pathogénécité** des prions est que la **protéine normale PrP^C** est **absolument nécessaire à la propagation de l'infection** et lors d'une transmission expérimentale, c'est la **protéine pathogène PrP^{res}** de l'hôte qui s'accumule et non celle du donneur !

Les animaux atteints d'encéphalopathie subaiguë spongiforme par contamination par un prion pathogène étranger, accumulent leur propre prion pathogène (PrP^{res}) et non le prion pathogène de l'animal qui les a contaminé

Il semble donc admis que **la présence de la protéine normale (PrP^C) soit requise pour que s'exprime la toxicité de la protéine**

pathologique PrP^{res}. Un phénomène de ce type (et qui rappelle la notion d'**hérédité cytoplasmique**) a été décrit chez la **levure** chez laquelle le transfert de type génétique, peut chez certains mutants s'effectuer grâce au **cytoplasme** (cytoduction) et non par le noyau [6].

De ce fait, l'hypothèse la plus communément admise actuellement, fait intervenir une **interaction protéine/protéine** au cours de laquelle la **protéine modifiée PrP^{res}, entraîne le changement conformationnel de la protéine normale PrP^c en PrP^{res}** et ceci de façon **quasi autocatalytique et irréversible** [1^b]. Selon Stanley **Prusiner**, le **prion PrP^c** pour **se replier de façon anormale** s'associerait avec une **protéine chaperon**¹⁰ [1^b, 40] dénommée **protéine X** qui interviendrait sur la partie du prion commune aux différentes espèces (Bovins, Souris, Hamster, Homme) et qui serait apportée par l'hôte. Ceci permettrait d'expliquer pourquoi **le prion est capable de franchir la barrière d'espèce**, c'est-à-dire de pouvoir **infecter des espèces différentes** par exemple de la Vache vers l'Homme. Si cette hypothèse s'avérait exacte, une voie thérapeutique envisageable serait de tenter d'inhiber les interactions entre la PrP^c et la protéine X, donc la réplication du prion PrP^c en prion PrP^{res}.

Cette **barrière d'espèce** correspond donc à la **résistance à l'infection liée à des prions**, observée lors des essais de transmission d'une espèce à une autre espèce, et qui entraîne toujours une **augmentation importante du temps d'incubation de la maladie**.

Le fait que les **Souris transgéniques** dépourvues de prions **PrP^c** (ou Souris Knock-out) soient viables, résistantes à l'encéphalopathie spongiforme, et ne présentant que des altérations sans conséquence de la transmission synaptique, suggère que **l'effet toxique de la PrP^{res} ne provient pas d'une perte de fonction de la PrP^c**.

Il est évident que le mécanisme pathogène des encéphalopathies spongiformes transmissibles est complexe. S'il est probable que la **protéine PrP^{res} joue un rôle essentiel dans ces maladies, d'autres facteurs doivent certainement intervenir**, en particulier des **facteurs environnementaux**.

Un point important qui demanderait des recherches plus approfondies, concerne le **mécanisme de la neurotoxicité de la protéine PrP^{res}**. Cette **toxicité** semble résulter de **deux mécanismes**

¹⁰ protéines acquièrent leur structure finale tridimensionnelle native grâce à l'assistance de protéines dites **chaperonnes**.

L'effet toxique de la **PrP^{res}** ne provient pas de la perte de fonction de la **PrP^c**.

Le mécanisme de la neurotoxicité du prion pathogène est encore imparfaitement connu, mais ferait intervenir un processus d'agression oxydante

complémentaires. D'une part, l'**accumulation de la PrP^{res} dans les neurones** entraîne une **toxicité directe**, selon un mécanisme encore inconnu, qui **aboutirait à une perturbation** de la **transmission synaptique** [41]. Par ailleurs, la **présence de prions PrP^{res} dans les cellules gliales ou dans tout environnement direct** pourrait déclencher une **agression oxydante** avec formation d'**anion superoxyde (·O-O⁻)** et d'**oxyde d'azote (·N=O)** qui, par **interaction mutuelle**, forment de l'**anion peroxyntrique (O=N-O-O⁻)**, lequel entraînerait par **apoptose**, la **mort des neurones** [42], comme indiqué sur le schéma 3 ci-après.

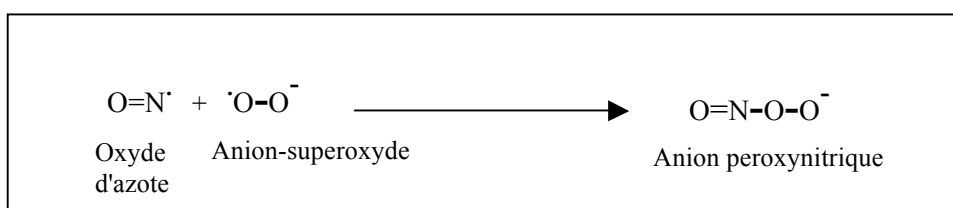


Schéma 3

Formation de l'Anion peroxyntrique par interaction de l'Oxyde d'azote et de l'Anion-superoxyde.

Il semble donc que la **microglie** joue un rôle essentiel comme **médiateur** de la **mort neuronale**, responsable en final de la **neurodégénérescence du SNC**.

Dans ce contexte, des **antioxydants** devraient diminuer la progression du processus d'apoptose, mais les essais thérapeutiques sont restés jusqu'à présent assez décevants.

Actuellement de nombreux arguments plaident en faveur d'**un rôle important du cuivre** dans l'activité physiologique normale du Prion PrP^C. Le cuivre sous forme de cation cuivrique (Cu²⁺) apparaît en effet comme un élément important des **systèmes de défense contre l'agression oxydante** qui menace en permanence le **système nerveux central**, **grand consommateur de dioxygène** et dont la **réduction mono-électronique** libère en permanence des **entités réactives** comme l'**anion-superoxyde (O₂^{·-})**, le **peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)** et le plus agressif, le **radical hydroxyle (H-O·)**.

La **protéine prion PrP^C** peut **se lier** de façon coopérative avec **quatre à six atomes de cuivre** et ceci avec une très forte affinité, compatible avec un **rôle physiologique**. De ce fait le **cuivre** pourrait participer à l'acquisition de la structure tridimensionnelle de la protéine PrP^C.

Dans le cerveau, le prion PrP^C représente la principale **cuproprotéine** et le **prion normal** jouerait un **rôle déterminant** dans le **transport** puis la **métabolisation du cuivre**.

Ainsi les **ions cuivriques** (Cu²⁺) extracellulaires seraient responsable du **déclenchement de l'endocytose** de la PrP^C, qui à son tour va libérer dans le milieu des ions cuivriques. Cette libération de Cu²⁺ va entraîner l'activation d'une enzyme très importante : la **superoxyde-dismutase Cu/Zn** (SOD Cu/Zn) enzyme, qui joue un rôle primordial dans la **protection contre l'agression oxydante** en **détruisant l'excès de peroxyde d'hydrogène** formé durant la **réduction mono-électronique du dioxygène** surtout au niveau de la **chaîne mitochondriale**. Une autre conséquence bénéfique de la libération in vivo du cation cuivrique (Cu²⁺) est l'**activation de la glutathion-réductase** une cuproprotéine qui intervient dans la **réduction du glutathion oxydé**(G-S-S-G) formé durant la **réduction du peroxyde d'hydrogène** en présence de **glutathion-peroxydase**, une enzyme renfermant du **sélénium** sous forme de **sélenocystéine**.

Il faut remarquer que les Souris Knock-out PrP^C sont beaucoup plus sensibles à l'agression oxydante due au peroxyde d'hydrogène.

Au niveau du **système nerveux central** une autre molécule simple est impliqué dans l'agression oxydante : il s'agit du **monoxyde d'azote** ($\dot{N}=O$).

Molécule de la **communication neuronale** (rôle dans la mémorisation) me monoxyde d'azote est aussi impliqué dans le **processus d'agression oxydante**.

Comme cela est décrit dans le schéma 3 (page 32), le **monoxyde d'azote** (structure radicalaire $\dot{N}=O$) réagit facilement avec l'**anion-superoxyde** (premier produit la réduction monoélectronique du dioxygène et qui est un radical-anion $\dot{O}-O:\bar{\cdot}$) avec formation de l'**anion peroxy-nitrique** ($O=N-O-O^-$), molécule oxydante puissante. Or chez les animaux atteints de la Tremblante (Ovins, Caprins...) la NO-synthase est libre dans le cytoplasme.

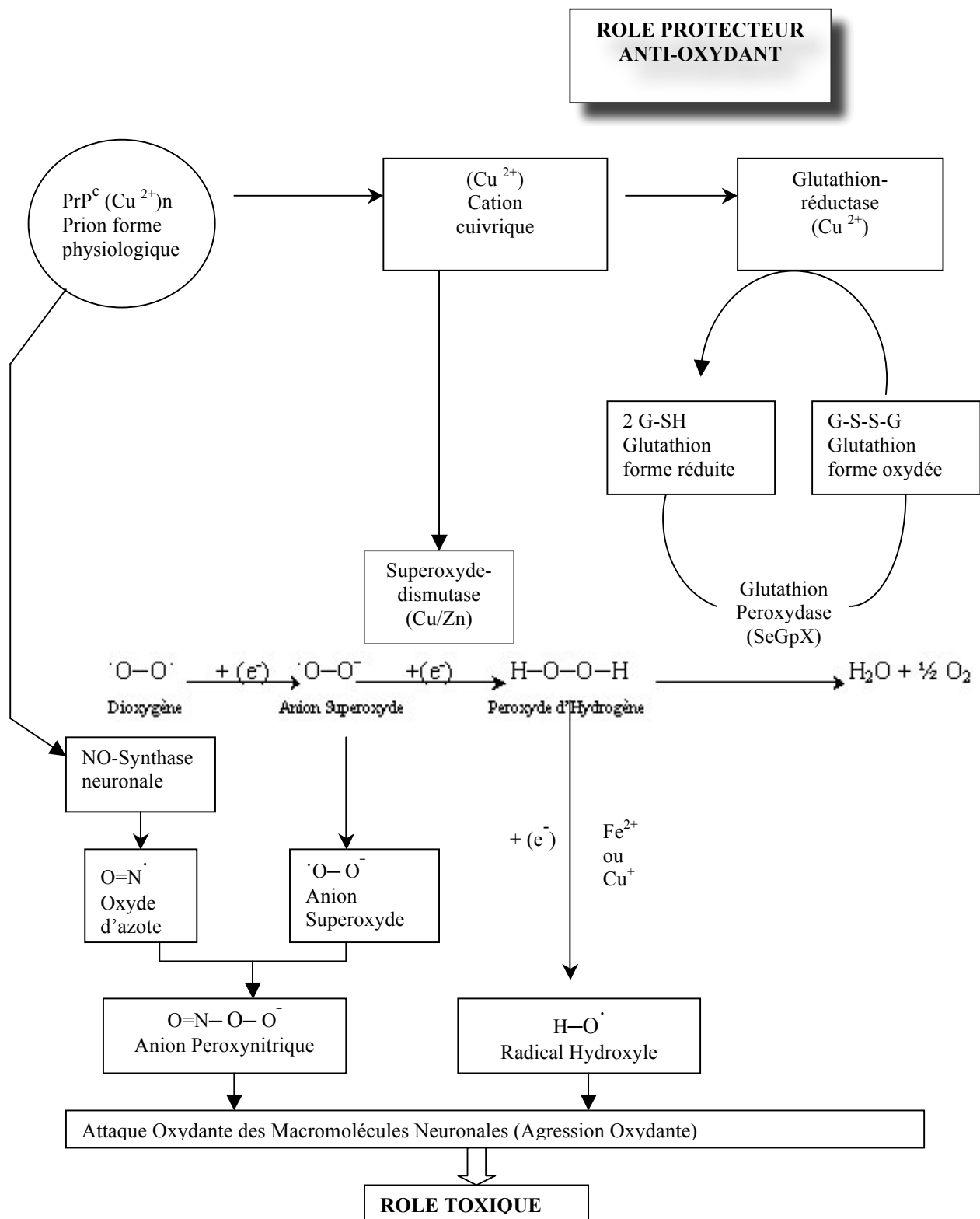
En fait dans le cerveau, la **NO-synthase neuronale**, source de $\dot{N}=O$ est fixée à la face interne de la membrane plasmique neuronale. Dans l'état

actuel des connaissances, le rôle du cuivre dans l'activité de la protéine prion Pr^{PC} serait double.

D'une part la protéine prion Pr^{PC} jouerait avec le **cuivre**, le même rôle que la **transferrine** assure dans le **transport du fer**. En libérant des **ions cuivriques** (Cu²⁺) nécessaires au fonctionnement d'**enzymes anti-oxydantes** comme la **superoxyde-dismutase** Cu/Zn ; et la **glutathion-réductase**, une cuproprotéine engagée dans la réduction de la forme oxydée du glutathion, la cuproprotéine Pr^{PC} jouerait un **rôle fondamental contre les formes réduites du dioxygène** : l'**anion superoxyde** et le **peroxyde d'hydrogène**.

En ce qui concerne la **protéine pathogène Pr^{Pres}**, elle interviendrait dans la **neurotoxicité** en libérant la NO-synthase neuronale dans le cytoplasme à partir de la membrane plasmique où elle est normalement ancrée. La **NO-synthase** libère le **monoxyde d'azote**, source de l'**anion peroxynitrique** qui intervient dans l'**agression oxydante**. De plus le **radical hydroxyle** (H-O[·]) formé par réduction mono-électronique du peroxyde d'hydrogène en présence de **cations réducteurs** (Fe²⁺ ou Cu²⁺) serait aussi un acteur important dans l'agression oxydante des molécules biologiques.

Le schéma 4 résume la dualité entre des effets protecteurs bénéfiques liés au cation cuivrique libéré à partir de la protéine Prion Pr^{PC} et les effets neurotoxiques dus à l'agression oxydante provoquée par le radical hydroxyle et l'anion peroxynitrique.



SCHEMA 4

DUALITE ENTRE LE ROLE PROTECTEUR ANTI-OXYDANT DE LA PROTEINE PRION PrP^c ET LE ROLE NEFASTE TOXIQUE DE LA FORME PATHOGENE DU PRION PrP^{res}

6 • EXISTE-T'IL DES PATHOLOGIES AUTRES QUE LES MALADIES À PRIONS ET QUI SONT ASSOCIÉES À UN REPLIEMENT INCORRECT DE PROTÉINES ?

Comme le prion PrP^c, plusieurs autres protéines sont susceptibles de se replier de façon anormale.

Comme l'a recensé Jeannine **Yon-Kahn** dans un article original sur les **prions** [31], actuellement **16 protéines** ont été caractérisées comme étant susceptibles d'entraîner in vivo la formation de **fibrilles amyloïdes toxiques**. Dans certaines circonstances, ces protéines peuvent s'assembler pour former des **fibres** de 6 à 10 nm dont l'**accumulation** s'effectue au niveau du **système nerveux**.

Parmi ces **protéines** susceptibles d'un **repliement anormal**, on trouve la **protéine amyloïde** présente dans la **maladie d'Alzheimer**, ainsi que la **transthyréine**, protéine plasmatique transporteur de la **thyroxine** (hormone thyroïdienne) dont le dysfonctionnement peut conduire chez le sujet âgé (80 ans) à une **amyloïdose systémique sénile**.

Des phénomènes dégénératifs du système nerveux central sont aussi observés avec l'**insuline** (amyloïdose au point d'injection), les **chaînes légères des immunoglobulines** (amyloïdose systémique primaire), le **fibrinogène** (amyloïdose rénale héréditaire) ...

Toutes ces **protéines**, par un **changement de conformation** peuvent conduire à la **formation d'un intermédiaire de repliement** à partir duquel, par **autoassemblage**, peut se former des **fibrilles amyloïdes**, génératrices des **plaques séniles**.

Le mécanisme commun aux protéines prions ainsi qu'à toutes ces protéines, impliquées dans des rôles physiologiques très divers, est qu'**elles peuvent, par changement de conformation, former des fibrilles amyloïdes**. Celles-ci sont caractérisées par une **répétition de motifs en feuillets bêta**, entraînant leur **insolubilisation**, avec précipitation sous forme de **plaques amyloïdes**.

Il faut remarquer que la présence de **protéines chaperons** empêche cette **agrégation fibrillaire**.

Fait étonnant, la **levure de bière** (*Saccharomyces cerevisiae*) possède dans son cytoplasme une **protéine Ure 2p**, qui sous l'influence d'un changement de son environnement (apport insuffisant de sources azotées) se transforme en une **forme anormale** sous forme de solides fils de 10 nm de diamètre** dénommée **URE 3** et ceci sans intervention de l'ADN nucléaire [6].

* Susan Lindquist, (Whitehead Institute, Boston) a déposé sur ces protéines anormales des atomes d'or ou d'argent formant des nanofils qui alors conduisent le courant électrique ! (Congres AAAS, février 2003, Denver).

Par analogie avec le **changement de structure de la PrP** et l'hypothèse de **transmission directe d'information de protéine à protéine**, ce processus a été dénommé "**phénomène de type prion**".

En février 2001, une équipe du CNRS de Gif sur Yvette a déterminé la **structure aux rayons X** de l'**Ure 2p**, ce qui devrait permettre de mieux comprendre le rôle de ce type de protéine [44].

Ce **processus d'adaptation cellulaire** dit **modèle "analogue"** n'est pas comme pour le prion un phénomène infectieux, et se retrouve aussi chez les **champignons filamenteux**, qui possèdent une **protéine HET-s**, capable d'auto-transformation, indépendante du génome.

L'étude du prion, va certainement contribuer à développer les recherches sur les **modèles d'hérédité non mendélienne**, qui jusqu'à présent avaient été assez délaissées !

Par ailleurs, selon Stanley **Prusiner**, une manière de lutter du point de vue thérapeutique contre les encéphalopathies spongiformes subaiguës à prion, serait d'interférer avec le mécanisme de répllication de la protéine prion pathogène (PrP^{res}).

7 • ET SI L'AGENT INFECTIEUX DES ESST N'ÉTAIT PAS UNIQUEMENT LA PROTÉINE PRION ?

On doit bien l'avouer, actuellement personne ne connaît la nature réelle de l'agent infectieux des encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles (ESST).

Maintenant, une majorité des scientifiques s'est ralliée à l'hypothèse de Stanley **Prusiner** : la **forme normale du prion**, protéine du système nerveux central serait donc à l'origine de **l'agent infectieux** et serait **responsable des ESST**.

L'hypothèse du **prion** est très séduisante, mais n'explique pas tout. Ainsi la mise en évidence de **plusieurs souches d'agents transmissibles non conventionnels** (ATNC) chez un **même hôte** nécessite l'existence d'une information spécifique de souche transmissible indépendamment de l'hôte, donc de sa protéine prion normal.

Le groupe écossais d'Alan **Dickinson** [45] a développé à la fin des années 80 la **théorie du virino**. Un **virino** correspondrait à une structure hybride formée d'un **petit acide nucléique infectieux** nu qui pourrait se lier à une **protéine de l'hôte** : le **prion normal (PrP^c)** qu'il transformerait en **prion pathogène (PrP^{res})**.

Dans le numéro de la revue américaine Science du 17 janvier 1997 [30], Corinne **Lasmézas** et Jean-Philippe **Deslys** de l'équipe dirigée par Dominique **Dormont** (CEA et Service de Santé des Armées) et à laquelle étaient associés des chercheurs du CNRS et de l'INSERM, postulaient, grâce à des travaux sur la Souris, que l'**agent principal, responsable des encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles (ESST), ne serait pas la protéine prion résistante à la protéase K (PrP^{res})**, mais un autre agent de nature encore inconnue, peut être un **acide nucléique très petit (infravirus ou virino)** capable de se répliquer chez l'hôte, même en l'absence de prion.

Selon cette hypothèse, proche de la théorie du virus, la **protéine prion (PrP^{res})** n'apparaîtrait que sous l'action de ce **facteur infectieux inconnu**. Ceci permettrait de dissocier le **caractère infectieux**, lié à cet agent, du rôle de la **protéine prion** impliquée dans l'**action pathogène**.

Certains scientifiques restent attachés à l'hypothèse classique d'un **virus non identifié**, qui aurait échappé aux techniques de détection de la biologie moléculaire, ce qui semble néanmoins assez étonnant.

Pour tenir compte de la vitesse de conversion de la protéine prion normale dans sa forme pathogène, un **modèle dit de nucléation** s'appuie sur l'analogie avec les **phénomènes de cristallisation en chimie inorganique**.

La protéine prion PrP^c a d'autres concurrents comme agent des encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles.

La figure 6 regroupe trois hypothèses (virus classique, virino et protéine prion) sur la nature de l'agent transmissible non conventionnel (ATNC).

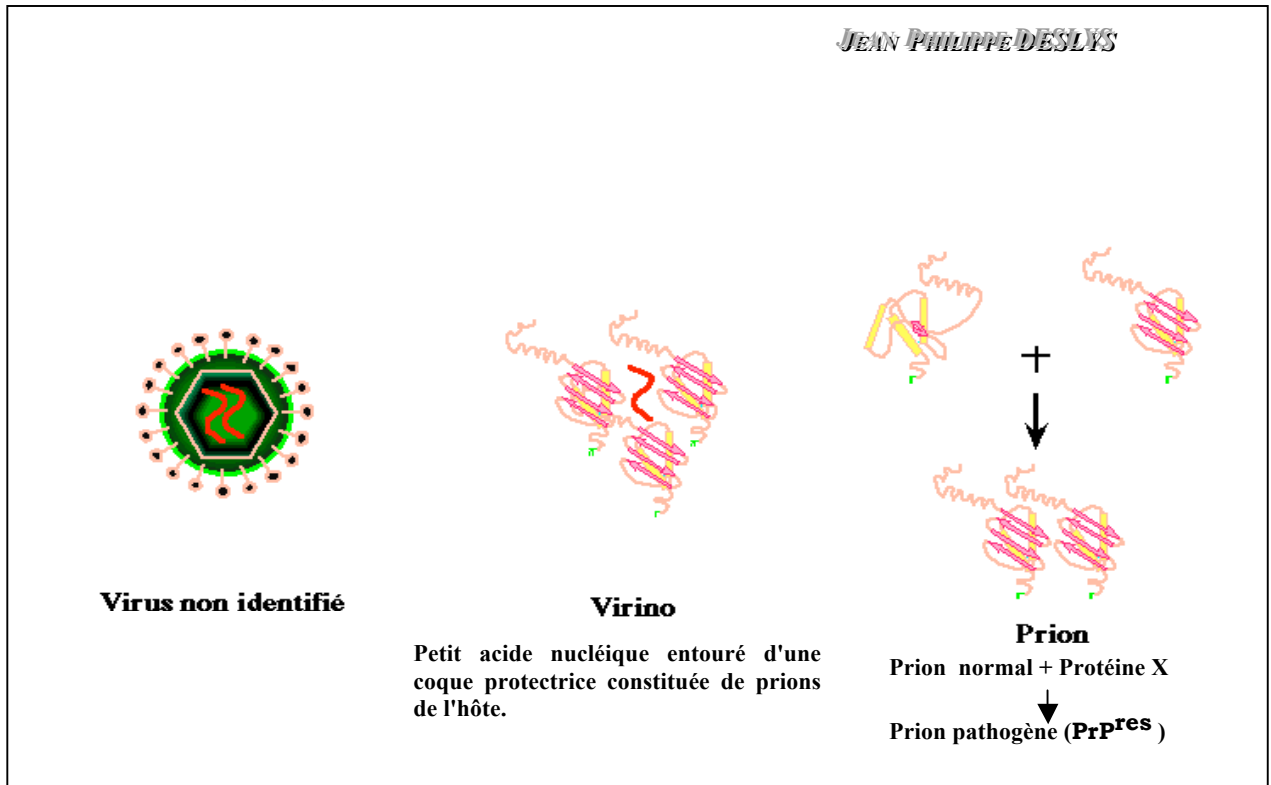


Figure 6

Principales hypothèses sur la nature de l'Agent transmissible non conventionnel (ATNC).

D'autres transmissions d'ESST, sans accumulation de PrP^{res}, ont été aussi rapportées dans la littérature.

Le mystère de l'origine des maladies à prions continue donc à s'épaissir, mais ceci ne peut être qu'un stimulant pour approfondir ce défi lancé à la biologie moléculaire [47].

8 • QUELS SONT LES RISQUES DE TRANSMISSION À L'HOMME ?

La transmission du prion pathogène PRNP peut s'effectuer du bovin à l'Homme.

Les **encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles (ESST) sont transmissibles expérimentalement à l'animal**, mais cela dépend beaucoup de la **barrière d'espèce** [13].

Ainsi la maladie de Creutzfeldt-Jakob se transmet à la Souris, au Cobaye, au Hamster et au Singe, et comme nous l'avons vu précédemment, de l'Homme à l'Homme. Ce **phénomène de barrière d'espèce** est, en **santé publique**, **l'élément critique dans l'appréciation des risques liés aux prions** .

Si la transmission au sein d'une même espèce est efficace à 100% (par exemple Homme-Homme), celle-ci n'est plus que de 20% dans le cas Homme-Souris.

Le gène de la protéine prion (gène PRNP) règle le passage de la barrière d'espèce.

C'est le **gène de la PrP**, dénommé **gène PRNP** (page 24) qui règle ce phénomène de **barrière d'espèce**. Il contrôle aussi la **susceptibilité individuelle** et la **durée de la période d'incubation** [13].

La **nature des tissus** ou des **organes, responsables de la transmission des maladies à prion, est déterminante**. C'est le **système nerveux central (cerveau...)** qui est le **plus infecté** et sera, de très loin, **le plus dangereux pour l'Homme** en terme de santé publique. Il en est de même pour la **moelle épinière** et pour des organes annexes comme les **yeux** (rétine).

Les **tissus lymphoïdes (thymus, amygdales, intestin...)**, la **rate**, le **placenta**, sont aussi de **bons vecteurs de l'agent transmissible**.

Les **muscles squelettiques**, les **reins**, le **cœur**, mais aussi les **globules rouges**, le **sérum**, le **lait**, la **salive**, le **sperme**, **n'ont jusqu'à présent, jamais pu être associés à la transmission de la maladie**.

En **1991**, l'**OMS** [48] a pu établir, à partir des **modèles animaux**, une **liste des tissus à risque** répartis en **cinq catégories** comme l'indique le tableau 3 ci-après :

CATÉGORIE	NIVEAU D'INFECTIOSITÉ	TYPE DE TISSU
I	Haute infectiosité	cerveau, moelle épinière¹¹, rétine (yeux)
II	Infectiosité moyenne	amygdales, rate, ganglions lymphatiques, iléon, côlon proximal, placenta
III	Infectiosité faible	nerf sciatique, hypophyse, surrénales, côlon distal, muqueuse nasale
IV	Infectiosité minimale	thymus, moelle osseuse, foie, poumons, pancréas, liquide céphalo-rachidien
V	Infectiosité non détectable	muscles, cœur, reins, thyroïde, ovaire, utérus, glande mammaire, testicules, vésicule séminale, sérum, caillot sanguin, lait, colostrum, fèces

Tableau 3

Classification selon l'OMS des tissus en fonction de leur infectiosité (OMS, 1991) [48]

Depuis le **1^{er} Octobre 2000** (décision du 29 Juin 2000) tous les **pays de l'Union européenne** doivent retirer de la **chaîne alimentaire**, les **matériels à risques spécifiés (MRS)**.

Pour l'**Union européenne** sont considérés comme **tissus à risques spécifiés (MRS)** :

- chez les **bovins**: le **crâne (encéphale et yeux compris)**, la **moelle épinière**, les **amygdales**, l'**iléon** (pour les animaux âgés de plus de 12 mois).
- chez les **ovins** et les **caprins**, les **mêmes organes** (pour les animaux de plus de 12 mois) plus la **rate**.

La **France** a ajouté à cette liste :

- pour les **bovins**, l'**intestin** et la **rate** (de tous les animaux) et le **thymus** (pour les animaux nés avant le 1^{er} mai 1999). Le 25

¹¹ La moelle épinière rentre dans la composition des amourettes, un plat lyonnais très apprécié !

septembre 2002 l'AFSSA a autorisé la réintroduction dans la chaîne alimentaire du ris (thymus) de veaux nés après le 30 juin 2002.

- pour les **ovins** et les **caprins**, le **crâne** (des animaux nés ou élevés au Royaume-Uni), la **moelle épinière** et les **viscères thoraciques** et **abdominaux** de tous les **animaux atteints de la tremblante**.

Le cerveau et la moelle épinière sont les tissus les plus contaminants.

En fait, il **faut écarter de l'alimentation humaine**, en premier lieu le **cerveau** et ses annexes (**œil**), ainsi que la **moelle épinière** (utilisée par exemple, dans la région lyonnaise pour préparer les amourettes), mais aussi par prudence, les **intestins**, la **rate**, le **thymus** (par exemple le ris de veau), les **amygdales**, les **ganglions lymphatiques** et même le **foie**.

Par ailleurs il faut être particulièrement vigilant par rapport aux **viandes mécaniquement reconstituées** et qui peuvent contenir des **matériaux à risque spécifié** (MRS), comme le **système nerveux central** (cerveau, moelle épinière...). Ces viandes reconstituées peuvent se retrouver dans les **raviolis**, les **hamburgers**, les **saucisses**, les **tourtes**, divers **plats cuisinés** mais aussi dans les **petits pots pour bébés**. Ainsi en août 2001 la **Food Standard Agency** britannique (FSA) a confirmé qu'entre la **fin décembre 1980 et le début des années 1990, plusieurs centaines de tonnes de viandes reconstituées** potentiellement **contaminées** par des **MRS** sont ainsi passées dans l'alimentation de nos voisins d'Outre Manche.

En ce qui concerne la **viande de bœuf**, Dominique **Dormont**, affirme que "le risque est tout à fait minime, si les règlements sont respectés, si les animaux malades sont éliminés de la chaîne alimentaire, si les farines animales ne sont plus données aux ruminants et si l'embargo sur la viande bovine britannique est efficace". Ce sont des recommandations très sages... mais qui peut garantir le respect de ces règles ?

Il est important qu'une réponse rapide soit apportée à la non contamination par les prions pathogènes de la viande des bovins, ovins et caprins.

Dans un article de mars 2002, Stanley **Prusiner** et coll. (Proc Natl Acad Sci, 99, 6, 3812-3817) décrivent la présence de prions pathogènes dans les **muscles** des pattes arrières de Souris et d'Hamster infectés par le prion pathogène de la tremblante du Mouton. Ces résultats n'ont pas été retrouvés dans les études ultérieures menées en France (AFSSA et CEA) où le prion pathogène a été détecté dans le cerveau et la rate des Souris infectées mais pas dans les muscles.

Un important effort de recherche doit être entrepris pour **bien cartographier la répartition des prions dans les muscles du bétail**

infecté (bovins, ovins et caprins). Ceci devrait permettre d'apporter une confirmation de l'absence de contamination par les prions pathogènes de la viande. C'est en effet un point essentiel pour rassurer totalement les consommateurs, dont beaucoup demeurent à juste titre très vigilants.

Avec un peu de recul, **on peut mettre en doute l'efficacité de l'embargo sur la viande bovine britannique**, d'autant plus que **l'Union européenne** n'avait qu'un souhait, la levée de cette mesure. Elle l'a obtenu le **2 octobre 2002**, le gouvernement français ayant annoncé la **levée de l'embargo**.

Fort judicieusement, le **gouvernement français** avait, le **1^{er} octobre 1999** refusé pour des raisons sanitaires cette levée partielle de l'embargo, qui frappait depuis 1995, les viandes bovines britanniques.

Il fallait en effet être très prudent en ce qui concerne certains morceaux de viande : ainsi le gouvernement britannique avait annoncé dès le 3 décembre 1997 des mesures visant à interdire la commercialisation de la **côte de bœuf** et de la **queue de bœuf**. Ces morceaux de viande sont en effet proches de la **colonne vertébrale** et **des ganglions rachidiens dorsaux**, lesquels seraient susceptibles d'être contaminés par les prions pathogènes.

Par prudence, **il vaut donc mieux éviter de consommer les quartiers de viande entourant la colonne vertébrale**, parfois contaminés par des fragments de moelle épinière.

En ce qui concerne les **produits secondaires issus de la filière bovine**, par exemple la **gélatine** préparée à partir d'**os de ruminants**, **leur emploi en France a été interdit** par un **arrêté du 24 mai 2001**, en particulier pour la **fabrication de gélatine alimentaire** (la majorité de cette gélatine alimentaire est préparée à partir de couenne de porc).

Par ailleurs, **70 % des produits pharmaceutiques** contiennent des **extraits bovins** notamment de la **gélatine**. Les **risques encourus**, difficile à réellement évaluer actuellement, faute de tests suffisamment sensibles, doivent être surtout estimés en fonction des **techniques utilisées pendant leur production**, en particulier au niveau de **l'efficacité des méthodes d'inactivation des prions pathogènes**. Il en est de même pour les gélatines utilisées dans les **cosmétiques**.

La **voie d'introduction des prions** est un **paramètre essentiel dans la transmission** des agents transmissibles non conventionnels.

Un gramme de tissu cérébral de bovin atteint de l'ESB donné par voie orale, suffit à provoquer de l'ESB chez cette espèce animale.

Expérimentalement, si la **voie intracérébrale** est de loin **la plus efficace**, la **voie orale** est par contre beaucoup moins évidente. Néanmoins, une étude chez les bovins a montré qu'**un gramme de tissu cérébral de bovin** atteint d'**encéphalopathie spongiforme subaiguë transmissible (ESST)** donné par **voie orale** suffit à provoquer la maladie chez cette espèce. En expérimentation animale, il faut chez le Hamster syrien (souche 263 K) inoculer près de 100 000 molécules de PrP^{res} pour voir apparaître la maladie [13].

Chez les **bovins britanniques**, on ne peut que s'interroger sur les implications éventuelles des **injections d'hormone de croissance** contaminée (l'usage illicite **d'extraits hypophysaires ou d'hormone somatotrope** est très à la mode dans certains élevages)¹²

La **période d'incubation varie en fonction de la voie d'introduction** : par **voie intracérébrale**, comme dans le cas de la **contamination chirurgicale** (greffe de dure-mère...), la **période d'incubation varie de quelques mois à quatre ans**.

En revanche, après traitement par **voie périphérique** avec des **extraits hypophysaires humains** (hormone de croissance) la **période d'incubation** varie de **cinq à quinze ans**, avec une médiane de douze ans.

Jusqu'à présent la transmission du prion par voie sanguine chez l'Homme n'a pu être mise en évidence.

Jusqu'à présent, dans les conditions d'une **transfusion sanguine**, les **maladies à prions n'ont jamais pu être transmises**, mais néanmoins des expériences animales, avec du **sang** provenant d'un animal contaminé, ont mis en évidence des possibilités de transmission lorsque l'inoculation se fait par voie intracérébrale. La transmission de l'**agent de l'ESB** par **transfusion sanguine** à partir d'un **mouton** contaminé expérimentalement par **voie orale** montre que le **sang** peut être un bon vecteur [13].

Ceci ne peut inciter qu'à une très grande prudence en ce qui concerne les **produits d'origine sanguine** qui doivent être soumis à des contrôles rigoureux et il est maintenant admis que **le sang peut être une voie de contamination**, même si cela n'est pas encore démontré formellement [13].

¹² Pour certains scientifiques britanniques, le traitement avec des extraits hypophysaires bovins, dans les années 80 pourrait être à l'origine du démarrage de l'épidémie d'ESB (A. Barnett et P. Wintour. L'expérience ratée qui aurait rendu les vaches folles.(Courrier international, 460, 26 Août- 1 Septembre 1999.)

L'équipe de John **Collinge**, a mis en évidence que **les prions pathogènes** présents dans le **cerveau** d'une des victimes atteintes de **maladie de Creutzfeldt-Jakob** (variété V-MCJ) peuvent aussi être caractérisés au niveau de ses **amygdales**. Ceci avait laissé présager la mise au point d'une **technique diagnostique** basée sur une simple **biopsie amygdalienne**, mais cette approche n'a pas donné les résultats attendus, car difficile à mettre en pratique. Néanmoins, cela doit inciter les **chirurgiens ORL** effectuant des **amygdalectomies**, à **détruire après intervention, leur matériel chirurgical**.

Il est déjà recommandé en **neurochirurgie** de **détruire rapidement les instruments** qui ne supportent pas les procédures de stérilisation efficaces contre les prions, et qui ont été utilisés chez des patients atteints de maladie de Creutzfeldt-Jakob.

La contamination d'origine professionnelle par les prions est possible et des mesures extrêmement strictes de prévention doivent être appliquées.

Une analyse de la littérature jusqu'en 1994, répertorie **33 travailleurs de Santé** (chirurgiens, pathologistes, personnels de morgues, histologistes, médecins, infirmières, dentistes, techniciens de laboratoire, ...) **décédés de la maladie de Creutzfeldt-Jakob** [2], et l'hypothèse d'une **contamination d'origine professionnelle** n'est pas, dans certains cas à exclure, mais demande à être confirmée [2].

Il est évident, qu'au niveau de la prévention, **tout le personnel participant à des autopsies ou à des examens anatomo-pathologiques doivent être d'une vigilance extrême**.

9 • GESTION DES RISQUES LIÉS AUX PRIONS ET PROTECTION DE L'HOMME

Comme cela a été détaillé dans le chapitre 2, c'est au **Royaume-Uni** que les risques liés aux prions pour l'Homme ont été les plus importants et ceci, durant la période (des années 80 jusqu'en 1996) où les **tissus** connus pour être **très infectieux** (cerveau et moelle épinière) entraînent dans la chaîne alimentaire. Il faut se rappeler [13] que **cerveau** et **moelle épinière** (à ne pas confondre avec la moelle osseuse, qui elle, n'est pratiquement pas contaminante) peuvent être utilisées soit directement dans de nombreux **plats cuisinés** (liants de sauce, raviolis...) soit indirectement par l'intermédiaire des **viances séparées mécaniquement**

(surtout celles entourant la colonne vertébrale) et qu'on pouvait retrouver par exemple dans les **viandes hachées** et les **hamburgers** (au Royaume-Uni jusqu'en 1996).

Selon Jean Phillippe **Deslys** [13] il est possible d'établir une **classification des risques chez l'Homme** en fonction de la **période d'exposition aux tissus nerveux contaminés** :

- **avant 1989, cerveau et moelle épinière** rentraient légalement dans l'alimentation humaine.

- **entre 1990 et 1996**, les mesures d'exclusion des tissus nerveux ont été mises en place progressivement et assez sélectivement au Royaume-Uni, comme cela est relaté dans l'annexe "historique".

Pendant cette période cruciale, les exportations britanniques de **farines animales** et d'**abats** vers l'Europe (surtout vers la France et le Portugal) augmentèrent régulièrement... et ceci sans aucun état d'âme, puisque les autorités affirmaient avec véhémence, qu'il n'y avait aucun risque pour l'Homme (Déclaration de John Major en décembre 1994).

- à partir de **mars 1996** déclenchement de la **crise de la vache folle** au **Royaume - Uni**, entraînant immédiatement l'**embargo** de la **France** (21 mars) puis du reste de l'**Europe** (27 mars) sur les **importations de viandes bovines et des troupeaux britanniques**. Malgré le jugement prononcé le **13 décembre 2001** par la **Cour européenne de justice de Luxembourg** le **gouvernement français** avait décidé de ne **pas lever l'embargo sur le bœuf britannique**, embargo qu'il a maintenu de manière unilatérale depuis 1999 sur les viandes bovines d'origine britannique.

Cette prise de conscience, bien que très tardive, aura néanmoins permis de diminuer très fortement la dissémination des produits contaminants dans l'alimentation humaine.

- depuis **novembre 2000**, la **France interdit l'utilisation des farines animales pour toutes les espèces d'élevage**, mesure de précaution indispensable, tant que la contamination reste possible.

Au niveau de l'**Union européenne**, les **mesures de précaution** concernent en plus de l'**interdiction complète des farines animales, l'utilisation systématique de tests de dépistage de l'ESB** chez les **bovins de plus de 30 mois**. Cette période correspond à l'âge où il est possible de détecter des quantités décelables de prions pathogènes et qui correspond aussi à la période à laquelle l'animal est susceptible de développer l'ESB.

Ces mesures devrait permettre l'élimination de tous les bovins détectés positifs, et ceci avant l'entrée dans la chaîne alimentaire.

En **France** et en **Allemagne**, le **dépistage systématique à l'abattoir** a été mis en place en **janvier 2001** et est devenu obligatoire en **juillet 2001** pour les autres pays de la communauté européenne.

Au **1^{er} juillet 2001**, la **France** a mis en place des **tests de dépistage systématique de l'ESB**, dès l'âge de **24 mois**.

A la différence des autres états membres de l'Union européenne, la Grande-Bretagne s'est toujours refusée à mettre en place un dépistage systématique des animaux apparemment sains âgés de plus de 30 mois. Par ailleurs, le gouvernement de Tony Blair se refuse de mettre en place un programme de dépistage des animaux âgés de plus de 24 mois comme cela se pratique en France et dans d'autres pays de l'Union européenne.

Ces faits justifiaient, en s'appuyant sur le **principe de précaution**, la position ferme de la France vis à vis de l'embargo sur le bœuf britannique. Suite à l'**avis de l'AFSSA du 20 septembre 2002** qui considère que la viande bovine britannique ne présenterait pas plus de risque que la viande française, **l'embargo a été levé le 2 octobre 2002**.

Actuellement **quatre types de tests** peuvent être utilisés pour **détecter les prions pathogènes** dans les **tissus cérébraux**, provenant d'**animaux morts** (bovins, ovins, caprins...)

- les **bio-essais** consistent à **injecter l'extrait cérébral à des Souris**. Ils nécessitent plusieurs mois pour obtenir un résultat (deux ans ou plus).
- Les **tests** utilisant l'**immunochimie** à base d'**anticorps spécifique de prions pathogènes** donnent un résultat au bout d'une semaine, mais ne sont pas applicable sur une grande échelle.
- Les **immunotests** mis au point en **Europe** (Suisse, Irlande, France...) sont **précis** et **rapides** (8 heures) et peuvent être réalisés en nombre. Ce sont les tests **techniques actuellement privilégiés**.

A titre d'exemple, le **test** de la **société Suisse Prionics** est basé sur une **technique de séparation par électrophorese**, suivie d'une **immunodétection** (Western-blot).

Parmi les tests français, celui mis au point par Jean Philippe **Deslys** et collaborateurs, développé au **CEA** à partir de 1996 et commercialisé par le groupe **CEA-Biorad**, est basé sur une **technique de purification de la Pr^{Pres}**, couplée à une **détection** par la **technique ELISA**.

En pratique c'est le **test le plus performant** en terme de **sensibilité**, étant aussi sensible que l'inoculation intracérébrale chez la Souris.

L'intérêt des tests sensibles est de garantir l'élimination de tous les animaux potentiellement dangereux pour l'Homme.

Actuellement de **nouveaux tests rapides et sensibles** sont en **cours de développement**.

Ainsi grâce à une **technique d'amplification** dite **PCMA** (Amplification cyclique des protéines anormalement pliées) le docteur Claudio **Soto** [43], chercheur suisse d'origine chilienne a réussi à mettre au point un nouveau test très sensible, qui devrait pouvoir être utilisé pour la détection de la **PrP^{res}** dans les tissus et liquides biologiques (sang, liquide céphalorachidien...).

Selon une publication parue le 21 juin 2001 dans le "Journal of Biological Chemistry" Ruth **Gazibon** et ses collègues du département de neurologie de l'hôpital Hadassah à Jérusalem (Israël) affirment avoir réussi à **détecter dans les urines d'animaux** et de **personnes atteintes d'encéphalopathies spongiformes**, une **protéine apparentée à la forme pathogène du prion** (PrP^{res}) et qu'ils ont dénommé **UPrSc** (U: pour urine). Ces résultats, s'ils sont confirmés, ouvrent la voie pour le **développement d'un test in vivo de détection des maladies à prion**, c'est à dire du vivant des sujets, alors que l'on ne dispose actuellement que de tests réalisés après le décès du sujet.

En **France** dès le **8 juin 2000**, le **Ministère de l'Agriculture** a lancé un **programme de 48 000 tests** pour **rechercher les bovins en phase d'incubation terminale** parmi une **population considérée à risque** (animaux de plus de 2 ans, morts dans des conditions douteuses) et ceci pour l'essentiel dans la région du Grand Ouest.

Sur les **48.000 bovins testés**, **74 étaient touchés par l'ESB**. Le **taux de prévalence** atteint donc **1,6 cas pour 1000**, chiffre plus élevé que celui qui est mesuré dans le cadre des **dépistages systématiques** effectués depuis le **1^{er} janvier 2001** sur les **animaux de plus de 30 mois**, animaux qui sont destinés à la consommation humaine. Dans ce cadre, en moyenne **un animal contaminé par le prion pathogène est détecté sur 30.000 animaux testés**.

Les enseignements de ces deux programmes de dépistage, arrivent à la même conclusion quant à **l'âge des animaux les plus exposés à l'ESB**, lesquels sont **nés entre 1993 et 1995** (90 % de tous les cas détectés).

A partir du **18 juin 2001**, un **nouveau programme** de tests a été lancé et a concerné **200.000 bovins dits à risque** et ceci sur **l'ensemble du territoire français**.

Il faut souhaiter qu'un tel dépistage soit aussi appliqué rapidement dans tous les autres pays de l'Union Européenne, car on ne peut que regretter qu'aucun dépistage systématique de l'ESB sur les animaux âgés de plus de 24 mois ne soit pratiqué au Royaume-Uni.

La mise en place depuis **juillet 2001** des **tests systématiques à l'abattoir** par la **Commission européenne** devrait, en toute logique, mettre en évidence que **tous les pays européens sont potentiellement susceptible de développer l'ESB**. Un premier cas d'ESB, détecté en juin 2001 en **Slovaquie**, a constitué, le démarrage d'un processus, qui ne peut aller qu'en s'amplifiant, comme le montre le tableau 1 (page 12)

Il doit en être de même pour plusieurs pays du reste du Monde qui se sont allègrement (et à bon marché) approvisionnés en farines animales britanniques (Japon, Thaïlande, Indonésie...).

C'est certainement pour devancer cette inquiétante éventualité que le **15 juin 2001**, lors d'une rencontre à Paris, l'**Office International des Epizooties (OIE)**, l'**Organisation Mondiale de la Santé (OMS)** et la **Food and Agriculture Organization (FAO)** ont recommandé que l'usage des **farines animales de viande et d'os** soient rapidement **interdit** dans **l'alimentation de tous les ruminants** et ceci à **l'échelle mondiale**.

En **France**, **l'action des pouvoirs publics**, a pour l'essentiel été guidée par le **principe de précaution**, utilisé il faut le reconnaître en général avec un certain bon sens. Néanmoins ceci ne justifie pas, que sous prétexte de **soutenir les cours de la viande en Europe**, nous sommes obligés de sacrifier des centaines de milliers de bêtes à corne de plus de 30 mois. Espérons pour le monde agricole, très traumatisé par cette mesure hors normes, que celle ci soit rapidement levée.

En effet ces mesures pour spectaculaires qu'elle soient, peuvent à terme, **ruiner toute notre économie agricole**, sans pour autant sécuriser complètement la filière bovine [13]. Beaucoup d'agriculteurs sont désespérés devant de telles perspectives et on peut craindre à terme pour certains d'entre eux, une issue dramatique... Qui, réellement prend en compte, ce drame que vivent ces petits exploitants ?

Un **risque potentiel supplémentaire** menace **l'agriculture européenne**: c'est **l'éventuelle contamination des ovins et des caprins par le prion bovin**. Actuellement il est impossible de différencier la

tremblante, propre aux **ovins** et aux **caprins**, de la maladie qui pourrait être engendrée par le **prion bovin**... la crise du **mouton fou** ou de la **chèvre folle** n'est pas impossible et si elle se déclare, cela aura des conséquences économiques catastrophiques.

Selon Moira **Bruce** [51], l'infection par le **prion** se répartit dans tout l'organisme du **Mouton** (tissu nerveux, ganglions lymphatiques, rate, amygdales, intestins, placenta...) et peut toucher la **viande** que nous consommons. A la différence des bovins, le **prion de l'ESB**, peut chez les **ovins** et les **caprins** se transmettre par le **sang**.

Or il semblerait que la répartition du **prion** chez l'**Homme** se rapproche plus de celle du **mouton** que de celle des bovins, ce qui impliquerait que la **transfusion sanguine** pourrait ne pas être sans risques.

Actuellement, les **tests de détection du prion** sensibles permettent de proposer une **protection de l'Homme** au niveau de la **chaîne alimentaire** (détection de l'ESB à l'abattoir) mais pas en ce qui concerne le **sang**... ce qui justifie les **efforts importants de recherche** pour mettre au point des **tests beaucoup plus sensibles** [13].

Il semble donc que le principal **risque de contamination** par le **prion de l'ESB** pour l'**Homme** soit:

- à partir des **bovins**, la **consommation de tissus fortement infectieux** : **cerveau, moelle épinière, ganglions** le long de la **colonne vertébrale, ganglion trijumeau et rétine**[13]. Les **tissus lymphoïdes** sont aussi **contaminants** et se trouvent en particulier dans l'**intestin grêle** (plaques de Peyer).
- A partir des **ovins**, il serait prudent de ne pas consommer les **tissus nerveux** et les **tissus riches en structures lymphoïdes** (intestins...). Dans ce contexte, il est évident qu'une **bonne protection de l'Homme** passe obligatoirement par le développement de **tests rapides des prions pathogènes**, tant pour les **bovins** que pour les **ovins** et les **caprins** ainsi que par la mise au point de techniques capables de différencier les prions pathogènes [13].

10 • LE PRION : UNE PROTÉINE D'UNE INCROYABLE RÉSISTANCE

Résistant à des fortes chaleurs sèches (plus de 360°C) les prions sont seulement inactivés en chaleur humide à 134°C sous 3 bars durant 18 minutes.

Contrairement aux protéines classiques, les **prions** présentent une **résistance exceptionnelle à la majorité des techniques généralement utilisées pour les inactiver**, et ceci les distingue ainsi nettement des bactéries et des virus [4, 13, 49].

Ainsi leur **thermostabilité** est tout à fait remarquable : **360°C pendant 1 heure en atmosphère sèche, ne suffit pas à les inactiver** totalement !

De même **ils résistent partiellement en milieu sec à 160°C** durant **24 heures**, ou à un **autoclavage à 121°C durant 1 heure** !

Seule la **chaleur humide permet de les inactiver** à des niveaux compatibles avec les exigences de la santé publique : l'Organisation Mondiale de la Santé recommande un **autoclavage à 134°C durant 18 minutes sous 3 bars**.

Selon le type de souche de prions, on observe des variations importantes de sensibilité à l'autoclavage, ce qui complique la mise en place de **normes de sécurité**.

Les **rayonnements ionisants** sont **peu efficaces** sur les prions : les doses utilisées classiquement en stérilisation (25 kGy) sont **sans effets**.

Les **rayonnements non ionisants** comme les **ultraviolets**, mais aussi les **ultrasons** sont **inefficaces** sur les prions.

Parmi les composés chimiques actifs sur les **prions**, on peut citer la **soude** (hydroxyde de sodium), qui est une base minérale forte, et l'**hypochlorite de sodium** (constituant de l'eau de Javel), agent oxydant très actif. D'autres produits chimiques comme le **formaldéhyde**, le **glutaraldéhyde**, l'**oxyde d'éthylène** et les **détergents**, sont **inefficaces**.

En définitive une **décontamination notable** de façon usuelle peut être obtenue :

- par **autoclavage à 134°C pendant au moins 18 minutes sous 3 bars**.
- par **traitement par de la soude N** (40 g/l) durant **1 heure à 20°C** ou par chauffage durant 1 minute avec NaOH N [49°]
- par action de l'**eau de Javel à 6 degrés chlorométriques** à **20°C** durant **1 heure**.

Les **deux produits chimiques utilisés** étant **corrosifs** pour les **matériels** et **dangereux** pour les **personnels**, seront donc mis en œuvre en appliquant les **mesures de protection individuelle et collective** adéquates.

Pour **inactiver des homogénats de tissus infectés par les prions**, il faut effectuer un **prétraitement durant 1 heure avec la soude N**, puis faire un **autoclavage à 121°C durant trente minutes** [49^c].

Il est évident que la meilleure technique pour **détruire les carcasses de bétail contaminées** est l'**incinération**, mais celle-ci doit être menée de façon rigoureuse.

Selon Jean- François **Narbonne** [52], si l'**incinération des farines animales** est faite dans des **installations** qui respectent les **normes d'émission de dioxines** (0,1ng /m³), il ne devrait pas y avoir d'augmentation significative du taux de contamination par ces **polluants organochlorés persistants** (POP) .

Il doit en être de même, si les **carcasses animales** sont incinérées dans ces conditions sécurisées.

Par contre, si le la **destruction** est faite **à l'air libre**, comme cela a été pratiqué en **Grande Bretagne** (sous forme de bûchers) pour les animaux atteints de la **fièvre aphteuse**, il n'y a aucun doute, que des quantités non négligeables de **dioxines**, mais aussi d'**hydrocarbures aromatiques polycycliques** (HAP) seront émises, augmentant de ce fait la **pollution aérienne** par ces **contaminants organiques** qui sont reconnus être des **toxiques redoutables** à long terme.

En France, un **arrêté du 29 juin 1996** rend obligatoire l'**incinération des produits issus d'animaux malades** ainsi que les **animaux à l'état sanitaire douteux**. En fait ces animaux malades sont après abattage transformés en farines, et celles-ci doivent être ensuite incinérées. Depuis **1999**, ces **farines** sont brûlées dans **les fours de l'industrie cimentière**, mais à ce jour des stocks anciens de ces farines n'ont pas encore été tous incinérés.

Ces stocks de farines sont en fait entreposées souvent dans des conditions catastrophiques et peuvent présenter un **risque sanitaire important**, un dépôt de ces farines ayant même pris feu spontanément à Ploussy (Côte d'Armor) en août 1999 ! On comprend mal ce laxisme, qui

La France produit beaucoup plus de protéines animales transformées et de graisses que les autres Etats membres de l'Union européenne. Plus de la moitié de ces produits proviennent des ruminants . Une partie de ces déchets sont exportés dans des pays tiers (Russie, Estonie...).

pourrait aboutir à une **contamination importante de l'environnement** (par l'eau et les sols), en plus du désagrément des **odeurs nauséabondes**.

Annuellement, les **déchets issus des abattoirs et des usines d'équarrissage** et qui **doivent être incinérés**, correspondent à **plus de 3 millions de tonnes**, ce qui va nécessiter **la construction de nouvelles installations énergétiques spécifiques**, qui on l'espère seront mises en place **en respectant les normes en vigueur**.

Selon la Direction générale de l'Alimentation du Ministère de l'Agriculture, on stocke annuellement 3,3 millions de tonnes de sous-produits d'animaux. Pour éviter **les réactions d'auto-échauffement des stocks de farines animales**, il ne faut pas excéder une hauteur de 7 mètres pour les tas de stockage.

En **juin 2002**, le **stock de farines animales s'élevait à plus de 500 000 tonnes**. Chaque semaine, la France produit 16 000 tonnes de farines animales dont 6 000 tonnes à haut risque (potentiellement contaminées par des prions pathogènes) et qui sont brûlées en flux tendu dans les **fours des cimenteries** (qui opèrent à environs 2000 °C). Sur les 10 000 tonnes de farines dites à bas risque seul le cinquième est brûlé par les cimentiers . Les 8 000 tonnes restantes doivent être stockées dans un des **28 sites sélectionnés** (surtout localisés dans le grand ouest) par la **mission interministérielle pour l'élimination des farines animales** (MIEFA). La **facture totale de ces stockages** est énorme : environ un **milliard de francs** (152 millions d'euros) dont une partie pour dédommager les cimentiers (45 à 60 euros la tonne de farine incinérée). Il semble donc impératif de trouver d'autres solutions alternatives pour se débarrasser de ces farines animales, sans pour autant polluer l'environnement.

11 • LES CONSIGNES DE SÉCURITÉ DOIVENT ÊTRE DRASTIQUES EN MILIEU DE TRAVAIL

Lors de la manipulation de tissus nerveux contaminés par les prions Pr^{Pres} il faut respecter rigoureusement les consignes de sécurité.

La **transmission**, semble-t-il **assez facile entre certaines espèces**, la **résistance aux traitements classiques de dénaturation** (chaleur, UV, acides forts, aldéhydes...) **doivent inciter tous les manipulateurs de tissus nerveux animaux ou humains, à respecter au maximum les consignes de sécurité** (lunettes de protection, gants renforcés, etc.), et

éviter toute blessure avec les **objets coupants** ou des **seringues**, ainsi qu'**avec tout matériel contaminé** [49, 53].

Selon l'**Institut National de Recherche et de Sécurité** (INRS, Paris), pour les **travailleurs des abattoirs** confrontés à des **animaux** susceptibles d'être atteints d'**encéphalopathie spongiforme subaiguë** (ESB, tremblante) il est recommandé de **limiter les risques de projections et de contact avec la peau et les yeux**.

Les **opérations à risque** exposant aux **matériaux à risques spécifiés** (MRS) sont par exemple la **séparation de la tête**, la **fente de la carcasse**, le **retrait de la moelle épinière**, l'**ablation des amygdales**, la **séparation des intestins**.

Dans l'attente de **mesures de prévention** portant sur l'**organisation du travail** et la **protection collective** qui restent prioritaire, la **prévention pour les personnels des abattoirs**, s'oriente dans l'immédiat vers des **mesures de protection individuelle**.

En **laboratoire de recherche, d'analyse...** travaillant dans le domaine des **prions**, les **consignes de sécurité doivent être drastiques**.

Ainsi tout **matériel histologique** (échantillons fixés et inclus...) sera toujours considéré comme **très infectieux** (49°). Il faut se souvenir que la **fixation des coupes histologiques au formol**, non seulement **n'inactive pas les prions**, mais pire, **provoque une résistance accrue du prion** à la décontamination ultérieure. Par ailleurs, le **prion reste contaminant des années sur les lames d'examen histologique de tissus** ayant subi toutes les techniques préparatoires (fixation au liquide de Bouin, déshydratation, inclusion, coloration...). Tous les **matériels de laboratoire** pouvant supporter un **traitement à l'eau de Javel à 6° chlorométriques** ou à la **soude N**, ou qui sont **thermostables** (à 120-130°), peuvent **être décontaminés** de façon efficace.

En France une circulaire du Ministère de la Santé [53b] donne des consignes à respecter au terme d'une évaluation du risque qui tient compte à la fois du sujet (à ou sans risque) et des tissus concernés (groupe 1 ou 2 et groupe 3 ou 4 selon la classification de l'O.M.S.).

Tous les **déchets** et **matériels contaminés à usage unique** seront **autoclavés à 135°C sous 3 bars**, avant d'être éliminés dans des **conteneurs étanches** vers un **centre d'incinération** agréé pour les **déchets spéciaux**.

L'incertitude actuelle sur le mode d'action réel du prion pathogène et sur ses voies de transmission, ne peut qu'inciter à une **très grande prudence**, comme pour tout risque biologique mal défini [49c].

En cas d'exposition accidentelle aux prions, par exemple, par inoculation intradermique, A. **Aguzzi** et J. **Collinge** [50], proposent d'associer l'excision du site d'inoculation, à un traitement immunosuppresseur à base de corticoïdes (Prédnisolone), sans oublier une antibiothérapie adaptée, et pour faire bonne mesure, une protection gastrique par un anti-H₂. Bien entendu, l'efficacité de cette thérapie reste à démontrer !

12 • CONCLUSION : LES MALADIES A PRIONS : UN PROBLÈME DE SOCIÉTÉ À RÉSOUDRE RAPIDEMENT

Une bonne application du principe de précaution aurait été, dès 1989 de bannir totalement l'utilisation des farines animales dans l'alimentation du bétail et ceci à l'échelle mondiale.

Les **encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles** (ESST) médiatisées depuis près d'une vingtaine d'années par l'**encéphalopathie spongiforme bovine** (ESB) ou **maladie de la vache folle**, constituent un **problème majeur** surtout pour l'**Europe**. Elles touchent à la fois la **santé publique** et donc le **monde scientifique**, mais aussi l'**économie** et plus globalement les **milieux politiques**. En effet de plus en plus, certains n'hésitent pas à relier le **développement des élevages industriels**, à l'**extension de ce type d'épizootie**.

Il est évident que selon le **principe de précaution**, il aurait fallu **dès 1989, exclure dans tous les pays l'utilisation de farines animales dans toute nourriture des animaux d'élevage** (y compris les porcs, les volailles, les poissons et les crustacés), ce qui n'a pas été le cas. Ainsi, en 1999 selon une enquête de l'Office Vétérinaire de l'Union Européenne, 6 % des aliments pour bovins, inspectés en France, renfermaient des farines animales !

Dans l'état actuel de nos connaissances, la **prévention** la plus adaptée, passe par la **suppression** dans l'**alimentation humaine** de toute **source potentielle de contamination d'origine bovine**. Il faut dans ce sens, associer d'une part l'**interdiction totale** de la **consommation par l'Homme de tissus bovins susceptibles d'être contaminés (cerveau, moelle épinière, intestin, etc.)**, et d'autre part l'**abattage de tous les animaux contaminés**, avec en final, **destruction**

La suppression totale dans l'alimentation humaine des tissus bovins susceptibles d'être contaminés par l'agent de l'ESB en particulier leur système nerveux central (cerveau, moelle épinière...) doit être une règle absolue de prévention 58

totale par incinération de leurs carcasses, mais aussi des **stocks de farines animales**.

En **France**, en s'appuyant sur le **principe de précaution**, depuis **mars 1991**, le **Ministère de l'Agriculture** préconisait l'**abattage systématique** de la **totalité du troupeau** dans lequel avait été détecté **un cas de vache folle**. Cet abattage aussi systématique que cruel a en **dix ans** entraîné la **destruction** de près de **30.000 bovins** apparemment sains¹³, pour 926 cas de vaches folles officiellement déclarés au 31 décembre 2004 (voir page 12 , tableau 1).

Après l'avis favorable de l'AFSSA du 11 octobre 2002, le Ministre de l'Agriculture a signé l'arrêté mettant fin à l'abattage systématique des troupeaux de bovins. La nouvelle politique d'abattage "par cohorte" consiste à euthanasier dans un troupeau touché par l'ESB que les bovins nés douze mois avant et douze mois après l'animal atteint ainsi que la descendance de ce dernier. L'Allemagne, l'Espagne, l'Italie, les Pays-Bas et le Portugal appliquent déjà cet abattage ciblé.

Avec Jean - Philippe **Deslys** [13] nous estimons que pour assurer la **sécurité sanitaire**, il suffirait d'éliminer les seuls animaux dépistés positifs à l'abattoir, par un **test rapide** et aussi sensible que le test sur la Souris, comme celui proposé par le CEA-Biorad. Son usage en abattoir éviterait de décimer des élevages constitués à 95-99 % de bêtes parfaitement saines¹³.

Depuis plusieurs années, diverses **missions d'enquêtes parlementaires**, britanniques, françaises et européennes, montrent sans ambiguïté que la **responsabilité** dans le drame de la **vache folle a été collective**, mais à un degré variable selon qu'il s'agit de la **Grande-Bretagne**, de l'**Union européenne** ou de la **France**.

En **France**, c'est la **mission parlementaire de l'Assemblée Nationale** dirigée par le Professeur Jean François **Matteï** (député des Bouches du Rhône et depuis juin 2002 ministre de la santé) qui dès **1997** (21 janvier) mis en évidence le **laxisme de l'administration française** dans la **gestion de la crise**.

A la même époque, la **mission d'enquête du Parlement Européen** présidée par Rheine **Böge** (député européen allemand) publie un **rapport accablant pour la Grande-Bretagne** et l'**Union européenne**, rapport adopté par l'**Europarlement** le **6 février 1997**.

¹³ Selon Martin Hirsch, directeur de l'AFSSA, au 30 avril 2001, sur 45.000 animaux provenant de troupeaux abattus (dans lequel une vache folle a été diagnostiquée) et qui ont été testés, un seul cas positif a été mis en évidence.

Ceci a contraint la **Commission européenne** à **se réformer en profondeur**, en ce qui concerne la **protection de la santé humaine alimentaire**.

Le principe en est simple : **séparer les services élaborant les textes réglementaires, de ceux chargés du contrôle des produits ou de l'expertise scientifique**.

En particulier l'**organisation des Comités scientifiques et vétérinaires** a été profondément revue.

A partir de l'été **1997**, tous les pouvoirs de consultation en matière de **sécurité alimentaire** sont passés de la Direction générale de l'agriculture (**DG VI**) à la **Direction générale de la santé et de la protection des consommateurs (DG XXIV, dénommée maintenant DG-SANCO)**.

Cette nouvelle direction s'est considérablement étoffée et de par sa composition semble **s'être soustraite de l'influence traditionnelle des lobbies agro-alimentaires**.

Un **Comité scientifique directeur (CSD)** coordonne en son sein, un réseau de **huit comités consultatifs** spécialisés dans différents domaines qui sont chargés d'évaluer les données scientifiques puis de formaliser les conclusions qui sont remises aux autorités communautaires. Le **Comité consultatif sur les ESST** réunit une **douzaine de spécialistes internationaux** et travaille surtout sur l'**évaluation des risques** (travaux consultables sur le site Web : http://europa.eu.int/comm/food/index_fr.html).

Le **8 novembre 2000**, le commissaire européen David **Byrne** a fait la proposition de créer une **Autorité alimentaire de l'Union européenne**, qui devait initialement voir le jour en **2002**... le temps passe et toujours rien !!

Cette **Autorité alimentaire** serait une **entité juridique séparée des institutions de l'Union européenne**, ce qui devrait éviter toute pression politique, comme cela a été de règle au début de la crise de la vache folle . Par ailleurs ce dispositif devrait permettre **d'éviter les conflits entre les experts nationaux et les experts européens**, comme cela fut le cas le 1^{er} octobre 1999 dans le différent opposant les **experts français**, aux autres **experts européens** au sujet de la **levée de l'embargo sur la viande bovine britannique**.

En ce qui concerne le **Royaume-Uni**, une **commission d'enquête officielle sur l'ESB et la variante de la maladie de Creutzfeldt-Jakob** diligentée par Lord **Philippe** a remis son rapport le **26 octobre 2000** (4000 pages en 16 volumes). Cette enquête qui a duré trois ans porte sur la **période antérieure au 20 mars 1996**, date à laquelle le gouvernement de John **Major** avait annoncé que l'**agent de l'ESB était transmissible à l'Homme**. Selon ce rapport la **crise de la vache folle** a abouti officiellement à la contamination de **180 000 têtes de bétail** (34 000 troupeaux de bovins touchés dont 60 % de vaches laitières), à l'**abattage de 4,7 millions de bovins**, au déboursement de près de **45 milliards de francs** pour les **indemnisations** et la **destruction des déchets**.

Ce rapport établit bien que cette période correspond à **dix ans de dysfonctionnement administratif et politique dans la gestion de la crise de l'ESB en Grande-Bretagne** .

Ainsi de **nombreuses décisions politiques ont été prises autoritairement** et ceci **au mépris complet des données scientifiques**.

Beaucoup d'observateurs, considèrent ce rapport comme encore **trop indulgent envers les responsables politiques et scientifiques** et qu'**il ne répond pas aux vraies questions sur l'origine réelle de l'ESB**.

Du côté de la **France**, un **rapport du Sénat**, publié le **17 mai 2001**, critique très sévèrement la **gestion de la crise de l'ESB**, que ce soit en Grande-Bretagne, en France ou au niveau de l'Union européenne .

L'**attitude injustifiable des autorités britanniques** y est dénoncée, lesquelles ont subordonné la **santé publique** au nom d'**intérêts économiques**. Comme on le voit les excès "libéraux" du thatchérisme, auront en effet coûté très cher à l'économie britannique.

Toujours selon le rapport du Sénat français, la **politique de l'Union Européenne** en matière de **lutte contre l'ESB** se caractérise d'une façon générale par une **inertie coupable dans les prises de décision**. Ainsi à titre d'exemple, alors que dès 1988 la Grande- Bretagne interdisait chez elle l'utilisation des farines de viandes et d'os (FVO) pour l'alimentation des bovins, la commission européenne de Bruxelles, ne l'interdira que six ans plus tard, en juin 1994.

Le **gouvernement français** est lui aussi mis en cause, en particulier le **ministère de l'Agriculture**, qui aurait cherché en permanence à **empêcher ou à retarder l'édiction de mesures de précaution**.

Ainsi à partir du moment où l'utilisation des farines animales britanniques étaient interdites au Royaume-Uni (18 juillet 1988) il aurait été souhaitable de suspendre immédiatement leur importation. Le gouvernement français ne prendra pas cette décision, ce qui va permettre **l'importation massive des farines animales anglaises** entre **juillet 1988** et **août 1989**, date à laquelle, enfin la France décide d'interdire leur importation. Tout est ainsi en place pour que la contamination du cheptel bovin français démarre, en commençant par la Bretagne porte d'entrée des farines animales contaminées britanniques.

Il faudra attendre **juillet 1990** pour que **la France interdise l'utilisation des farines animales dans l'alimentation des bovins**, mesure élargie en **1992** aux **autres ruminants** (ovins, caprins) et enfin en **novembre 2000** (soit 5 ans après la Grande-Bretagne) pour **l'alimentation de tous les animaux d'élevage** (porcs, volailles, poissons) avec il faut le remarquer des **dérogations** pour les **animaux de compagnie** (chiens, chats). Dans ce rapport, considéré par certains comme polémique, il est aussi reproché à l'**administration française** d'avoir travaillé d'une manière trop **cloisonnée**, parfois concurrentielle entre les différents ministères (par exemple entre l'Agriculture et la Santé).

De son côté, une **commission de l'Assemblée Nationale** a remis le **20 juin 2001**, un volumineux rapport (1400 pages) sur les **farines animales** qui met en avant, mais de façon plus nuancée, les accusations du document sénatorial.

La **responsabilité écrasante des autorités britanniques** y est stigmatisée, en particulier sur le fait qu'elles ont autorisées l'exportation des farines animales et des abats à risques, alors que cela avait été interdit pour les farines, dès 1988 en Grande Bretagne.

Bien entendu, le rapport dénonce aussi la **Commission européenne**, dont les différents Conseils des Ministres ont jusqu'au bout, nié le risque de l'ESB dans leur propre pays, retardant de ce fait l'adoption de mesures d'urgence pour le retrait immédiat des matériaux à risque spécifique (cerveau, moelle épinière, intestin, rate...). En effet si la France a été la première à les interdire en 1996, il faudra attendre l'an 2000 pour que cette mesure soit étendue à l'Union européenne. En particulier, l'**Allemagne**, l'**Italie** et l'**Espagne** ont longtemps refusé de prendre des mesures minimales contre la propagation de l'ESB, bloquant de fait, toute mesure de précaution au niveau européen.

Par ailleurs, ce rapport s'inquiète des risques qui demeurent du coté des importations en provenance des **pays classés à risques** comme la **Pologne**, la **Roumanie**, la **Hongrie**, la **Lithuanie**, l'**Estonie**, la **Slovaquie** et la **République Tchèque**.

A part cette dernière, aucune demande de détection du prion pathogène n'est exigée et les farines animales n'y sont pas interdites.

Un simple chiffre : durant les 9 premiers mois de 2000, environ 2500 tonnes de préparations à base de viande en provenance de ces pays ont été importées en France... tout de même un sujet à réflexion !

Ce qui est épinglé en priorité au niveau français c'est le **cloisonnement des administrations** (agriculture, douanes, fraudes, santé...) des plus **préjudiciable à la prise de décision rapide**.

Par ailleurs, l'**incapacité des pouvoirs publics à apprécier les vrais dangers de la vache folle** est mise en avant, déficience d'autant plus condamnable que quelques rares scientifiques avaient pourtant rapidement tirés la sonnette d'alarme.

Il faut bien reconnaître, que le point commun de tous ces rapports, qu'ils soient britanniques ou français, réside dans le fait que la **crise de la vache folle** a été pour l'essentiel **gouvernée par des enjeux économique-politiques**. Dans ces enjeux, aussi bien **le sort des agriculteurs honnêtes**, que la **santé des consommateurs**, auraient dus être des éléments déterminants, mais ils ont été ignorés.

Qui, aura un jour le courage de s'attaquer à cette triste réalité?

On a dit qu'« **A crise exceptionnelle, il faut appliquer un remède exceptionnel** »... Dans ce sens l'**Union européenne** a décidé un **moratoire** à partir de **janvier 2001** sur **l'utilisation de toutes les farines carnées dans l'ensemble des filières animales**. Elle a aussi décidé le **dépistage ou l'abattage de millions de bovins** de plus de **30 mois**. Il s'agit d'une **mesure qui semble sage**, mais qui est particulièrement **dramatique** pour **les agriculteurs** et dont l'ambition est de tenter d'enrayer une **crise folle** ! Espérons que ceci va peut être permettre de recréer un **dialogue de confiance** entre la **science**, les **politiques**, les **acteurs économiques** et surtout l'**opinion publique** .

En effet, cette **grave crise de la vache folle** aura parfaitement mis en évidence la **complexité des rapports pouvant exister entre les experts** disposant de l'**information scientifique** et le **pouvoir politique** qui doit prendre les **décisions finales**. Si l'**expert** et le **politique** peuvent

parfois former un **mélange explosif**, il n'en demeure pas moins que **le politique serait bien inspiré de choisir ses experts, en privilégiant la qualité scientifique et surtout l'impartialité !**

Aucune thérapeutique n'est connue actuellement pour le traitement des ESST.

Force est de constater que depuis 20 ans, il ne se passe pas d'années sans voir apparaître dans le monde, de **nouveaux agents infectieux** (virus VIH, Ebola...) voire des **maladies infectieuses d'origine inconnue** comme les **encéphalopathies spongiformes liées aux prions**. Ces **maladies à prions** sont des maladies rares, actuellement toujours fatales, caractérisées par des **atteintes graves du système nerveux central**, touchant l'**Homme** et **plusieurs espèces de mammifères**, et pour lesquelles on ne dispose actuellement d'**aucune thérapie**¹⁴.

Actuellement il n'existe aucun test biologique non traumatisant pour diagnostiquer les ESST.

Actuellement aucun test biologique non traumatisant permet d'affirmer sans ambiguïté le **diagnostic de ces ESST**. Selon une étude britannique (Lancet, 22 avril 2000), **l'imagerie par résonance magnétique (IRM)** serait utile pour confirmer le **diagnostic de la nouvelle variante** de la **maladie de Creutzfeldt-Jakob** et ceci par une **technique non-invasive**. L'**IRM** a ainsi permis de mettre en évidence des **anomalies** au niveau du **pulvinar**, petite structure centrale du **cerveau**.

Selon l'hypothèse actuellement privilégiée, les **encéphalopathies spongiformes subaiguës** (ESST) seraient dues à des **agents transmissibles non conventionnels** : dénommés **prions**. Le **prion** est une **protéine cellulaire**, au rôle encore mal défini, et qui, fait étrange, pourrait, **en changeant de conformation**, conduire à une **isoforme à caractère pathogène** qui s'**accumule dans le cerveau** souvent à l'état d'**agrégats insolubles**. Mais pour une minorité de scientifiques, la présence d'un très petit **acide nucléique** non encore détecté (**virino**), serait indispensable pour la transmission des maladies à prions.

Dans ce contexte d'incertitude, il serait pertinent de méditer sur la recommandation du Prix Nobel Carleton **Gajdusek** aux experts de l'OMS en avril 1996 "**Soyez prudent, en supposant que nous connaissons la**

¹⁴ En juin 2001, à Liverpool, la maladie de Creutzfeldt-Jakob nouveau variant (nc MCJ) est détectée chez une jeune militaire de 20 ans. Traitée en août en Californie par le Professeur Stanley **Prusiner**, grâce à un cocktail de médicaments dont la quinacrine (médicament antipaludéen) l'état de la jeune fille s'était nettement amélioré. Malheureusement suite à une atteinte hépatique, cette personne est décédée au début du mois de décembre 2001. En France une vingtaine de personnes ont été soumises à un traitement avec la quinacrine, le premier patient a commencé son traitement le 17 août 2001. L'utilisation de la quinacrine s'appuie sur la capacité de cette molécule de détruire in vitro les cellules nerveuses de souris infectées par des prions pathogènes. Par ailleurs cette molécule franchit facilement la barrière hémato-encéphalique. Le rapport préliminaire de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSAPS) publié en avril 2002 indique qu'aucune amélioration n'a été constatée après traitement à la mépracrine, la majorité des patients traités ayant décédé.

source ou la voie de contamination. Dans ce contexte, acceptez votre ignorance" [12c].

Il est donc primordial de **développer la recherche fondamentale**, sans laquelle aucune avancée thérapeutique rationnelle ne sera possible.

Situées à **l'interface des maladies infectieuses et des maladies dégénératives du système nerveux central**, les **encéphalopathies subaiguës spongiformes transmissibles (ESSB)**, constituent incontestablement un **domaine de recherche à privilégier**.

Ainsi, il est très important que soient précisés les **mécanismes de propagation de l'agent transmissible dans le système nerveux central** et aussi **entre espèces** (par exemple de la Vache à l'Homme ou de la Vache au Mouton puis éventuellement à l'Homme) afin d'**élaborer des stratégies de prévention** efficaces.

En **toxicologie moléculaire** il serait judicieux de développer **l'étude des protéines toxiques mal repliées**, ainsi que des recherches sur les **xénobiotiques** capables de participer au **développement d'encéphalopathies spongiformes**. Si l'on retient comme hypothèse, **une origine iatrogène des ESST**, quelques pistes seraient à privilégier. Ainsi récemment en France, a été décrit un cas de **maladie** dit de **Pseudo-Creutzfeldt-Jakob** chez un patient atteint de **psychose maniaco-dépressive (PMD)** et traité pendant 18 ans par du **lithium** [38]. L'utilisation de **sels de lithium** dans ces pathologies date de 1974 et seulement deux autres cas de ce type d'**accident iatrogène** ont été décrits dans le monde. Malgré tout, aucune piste ne doit être négligée, même si elle est non-conformiste !

L'accumulation, dans le tissu cérébral de certains éléments minéraux en particulier les **métaux traces toxiques** comme le **mercure (Hg)**, le **plomb (Pb)** et le **cadmium (Cd)** ou des métaux apparentés comme le **bismuth (Bi)** ou le **thallium (TI)** serait capable d'**initier des réactions d'agression oxydante** en particulier dans les **cellules gliales du système nerveux central**. Il est très vraisemblable que ces réactions, mettant en jeu des **mécanismes oxydo-réducteurs** puissent intervenir dans le **processus de vieillissement cérébral** et dans le développement de certaines **encéphalopathies**.

Parmi les autres **métaux** qui peuvent participer aux **atteintes dégénératives cérébrales**, l'**aluminium** fait l'objet de nombreuses recherches, en particulier en relation avec la **maladie d'Alzheimer**, mais

Il est essentiel de développer la recherche fondamentale sur le prion, afin de mieux appréhender une approche thérapeutique rationnelle.

L'étude comparative des protéines mal repliées et qui sont cytotoxiques serait un sujet de recherche à privilégier.

rien n'est définitivement démontré et cette hypothèse demande de nouvelles recherches.

Comme cela a été signalé précédemment (pages 23-24), le biochimiste anglais David **Brown** a montré qu'in vivo le **prion normal PrP^c** fixait deux atomes de **cuivre** et devenait ainsi biologiquement actif. Or il est possible que ces atomes de **cuivre** (sous forme d'ions cuivriques) puissent s'**échanger** avec d'autres **métaux de transition** en particulier avec le **manganèse**.

A partir de ces données, Mark **Purdey**, a élaboré une théorie qui ne manque pas d'originalité [24]. Selon ce fermier anglais, passionné par les sciences, l'apparition des **encéphalopathies spongiformes subaiguës**, en **Angleterre** serait liée d'une part au **traitement initial** (dans les années 70-80) **du bétail** contre le **varon** avec un **insecticide organophosphoré**, le **Phosmet** (formule page 8) qui, après métabolisation, serait un **chélatant** du **cuivre** et d'autre part serait associée à un **déséquilibre** dans l'apport par la nourriture d'**oligo-éléments essentiels**.

Ainsi selon Mark **Purdey** [24] un **sol** sur lequel **pâturer le bétail**, sol **pauvre** en **cuivre**, et (ou) en **zinc** et (ou) en **sélénium**, mais par contre **trop riche** en **manganèse**, serait favorable au développement des **encéphalopathies spongiformes transmissibles** (EST). L'analyse de divers sites à travers le monde (Islande, Colorado, Slovaquie, Italie du Sud...) montre que les **sols** présentant une **concentration élevée en manganèse** (en moyenne 2,5 fois supérieure à la normale), avec par ailleurs un **déficit en cuivre**, ou en **sélénium**, ou en **zinc**, seraient des sols favorables au développement d'**encéphalopathies spongiformes** et ceci chez diverses espèces animales.

David **Brown** (38^b) suggère que le **manganèse** pourrait prendre la place du **cuivre** dans la **protéine prion normal** (PrP^c), lui permettant aussi de **changer de conformation** et de **devenir pathogène**.

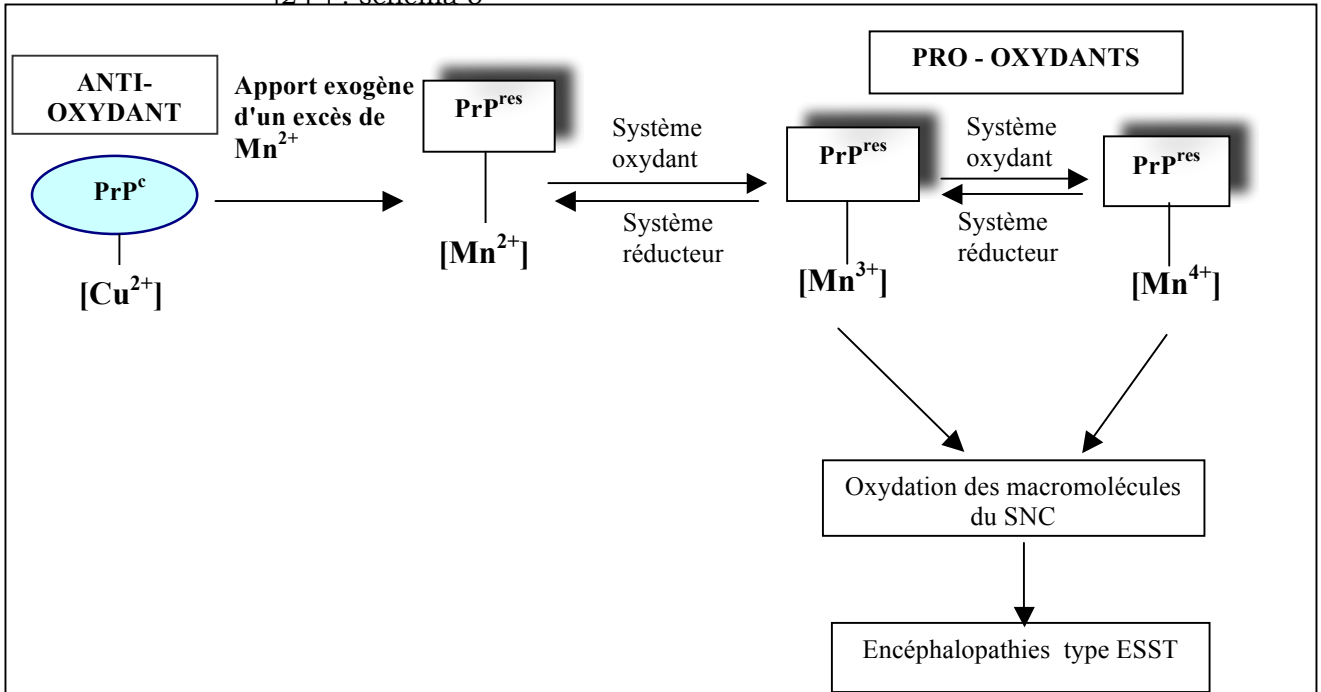
L'**activité antioxydante** de la **protéine prion normal à cuivre**, serait ainsi remplacée par une **activité pro-oxydante** liée à la **présence du manganèse** dans la **protéine prion pathogène** (PrP^{res}).

Selon Mark **Purdey** [24^c], il serait nécessaire que le **manganèse** qui serait capté sous sa **forme cationique divalente** (Mn^{2+}) puisse s'oxyder dans sa **forme trivalente** (Mn^{3+}) ou même **tétravalente** (Mn^{4+}). Ces **ions manganiques** (Mn^{4+}) sont des **puissants oxydants** et seraient capables d'**initier des processus d'agression oxydante** au niveau des neurones,

entraînant leur dégénérescence, puis leur mort. Le **système oxydant** en cause serait selon Mark **Purdey** lié à une **photoxydation** en présence de **rayonnements ultraviolets**.

Un schéma simplifié peut résumer cette hypothèse de Mark **Purdey**

[24^d] : schéma 5



SCHEMA 5

Hypothèse de Mark Purdey [24^d] du passage de la protéine Prion normal à cuivre (PrP^c) à la forme pathogène à manganèse (PrP^{res}).

Cette séduisante hypothèse, semble peu compatible avec les mécanismes proposés actuellement pour expliquer la **neurotoxicité centrale du manganèse**.

Ainsi la **neurotoxicité du manganèse**, observée en particulier en **milieu de travail** (mines, métallurgie...) et qui se caractérise par des troubles proches de la **maladie de Parkinson** (manganisme) nécessite une imprégnation importante par le manganèse, introduit surtout sous forme de **poussières** (dioxyde de manganèse...).

Il faut remarquer que ces poussières peuvent migrer directement de la **muqueuse olfactive**, le **long du nerf olfactif** jusqu'au **cerveau**, où le **manganèse** va s'accumuler dans certains **noyaux centraux** et entraîner des atteintes neuronales caractéristiques.

Par contre la **pénétration par voie digestive** est peu importante et n'excède pas 5 % chez l'Homme adulte.

D'après Mark **Purdey** [24^c], chez les **bovins** l'apport d'un **excès de manganèse** peut provenir d'une **supplémentation par la nourriture** et (ou) par **traitement par des pesticides** à base de **manganèse** (Maneb...), l'**excès de manganèse** (Mn^{2+}) s'accumulant au **niveau cérébral** en particulier dans les **mitochondries** des **astrocytes** (cellules gliales).

Chez l'animal ayant ingéré un **excès de manganèse** et dont l'**alimentation** ou des **traitements antiparasitaires** (insecticides organophosphorés...) auraient entraînés des **carences** en d'autres **oligo-éléments** (comme le **cuivre**), indispensables au bon fonctionnement des **systèmes enzymatiques antioxydants** (SOD, catalase, SeGPx), Mark **Purdey** suggère que le **manganèse** prendrait la place du **cuivre** dans la **protéine prion**. L'échange d'un **ion cuivrique** (Cu^{2+}) par un **ion manganèse trivalent** (Mn^{3+}) ferait passer la **protéine prion** de sa **conformation** normale à l'**isoforme pathogène**, laquelle serait en fait responsable, par un **processus oxydatif**, du déclenchement de la **neurotoxicité** observée au niveau du **tissu cérébral** (spongieuse).

Il faut remarquer que cette théorie originale, ne semble guère compatible avec le fait que le **manganèse** est avant tout un **oligo-élément essentiel à la vie** et qui, en particulier, sous forme d'**ion Mn^{3+}** est un constituant de la **Mn-Superoxyde-dismutase**, une **enzyme antioxydante**, extrêmement importante, surtout au niveau cérébral.

L'Américain's National Prion Disease pathology Surveillance Centre, a mis en évidence, dans le tissu cérébral de patients décédés de la maladie de Creutzfeldt-Jakob (forme sporadique) une **augmentation de la concentration en manganèse**, parallèlement à une **diminution du taux de cuivre**.

Certains travaux de David **Brown** [38] apportent quelques arguments expérimentaux à l'hypothèse de Mark **Purdey**, qu'il faut considérer comme une **approche multifactorielle** dans laquelle divers **facteurs environnementaux** (**carence en cuivre, excès en manganèse, apport de pesticides, intervention des ultra-violets, de l'ozone...**) auraient permis le **développement de l'épizootie de la vache folle**.

Les travaux en cours en Grande Bretagne pour vérifier cette hypothèse sont donc à suivre avec attention. En effet le propre d'une **recherche ouverte** est bien de prendre en compte, les **théories** qui peuvent sembler **peu conventionnelles** par rapport au milieu ambiant.

Il est indéniable que la **crise de la vache folle** a accéléré en **Grande Bretagne** puis dans le reste de l'Europe, une **sensibilisation** accrue à l'égard de **l'environnement** et de la **sécurité alimentaire**.

La ferme opposition de l'**Union européenne** à **l'utilisation des hormones en élevage**, en est certainement un premier signe encourageant, mais aura-t'on longtemps le courage de résister aux pressions américaines ? Pourtant qui doute actuellement que tous les perturbateurs endocriniens, dont les hormones de synthèses sont des produits chimiques à haut risque tant pour les individus que pour leur descendance.

En **France**, une partie du **monde agricole** vit dramatiquement la **crise de la vache folle**, certains **éleveurs** étant au bord de la faillite, voire pour quelques uns proche du suicide.

Pour l'agriculteur breton, André **Pochon**, qui est secrétaire de l'**Association Paysan et Citoyen**, il faut avant tout **réconcilier les citoyens** avec l'**agriculteur**, tant il est vrai que le lien qui les unit s'est singulièrement distendu depuis la crise de la vache folle.

Dans son dernier ouvrage "**les sillons de la colère**" André **Pochon** [54^b] stigmatise la **crise de la vache folle**. Selon lui cette **crise dramatique pour le monde paysan** et plus généralement pour le **citoyen** est l'aboutissement d'une **longue dérive due au modèle productiviste agricole**, qui consiste à **produire toujours plus, quelque soit les moyens** (et avec un **maximum de profit**) **sans se soucier des dégâts sur l'environnement et la santé** et d'ajouter : "**Elevage, Industriels de l'Alimentation animale, abattoirs, équarrisseurs, banques** etc., forment une **filière** derrière laquelle, il y a des milliers d'emplois, des milliards de francs de capitaux"... donc des **sources de profit** très importantes.

Ce qui ressort de l'analyse très pertinente d'André **Pochon**, c'est que : " Pour beaucoup de politiques il **faut avant tout sauver en France cette filière productiviste**, née dans les années 70 et ceci **quelqu'en soit le prix à payer**"...bien entendu prix à payer en final, **par le contribuable !**

Par ailleurs selon André **Pochon** [54^a], **l'attribution des aides publiques aux agriculteurs** (aides qui en général vont plutôt aux plus nantis) est un mauvais penchant qui une fois empruntée s'avère difficilement réversible. Non pas que la solution soit de supprimer toutes les subventions, mais il faudrait plutôt opérer un **contrôle sévère** de

l'utilisation qui en est faite. Le vrai problème est bien de **réorganiser les dépenses publiques** tant au niveau français qu'europpéen, et d'**affecter les subventions à ceux qui en ont réellement besoin**.

La création en **France** d'**agences** comme l'**AFSSA** ou plus récemment de l'**AFSSE**¹⁵ devrait contribuer à cette **prise de conscience collective** sur les risques réels d'une **mauvaise utilisation des produits chimiques ou biologiques**.

La **crise de la vache folle**, qui correspond à une **coupable dérive du productivisme agricole** et dont les **conséquences** sont **dramatiques** pour l'**environnement**, la **qualité des aliments** et la **santé humaine** a incontestablement , entraîné une **sensibilisation à l'égard des thèmes liés à l'environnement et à la sécurité alimentaire**.

Car il faut bien le reconnaître, nous vivons actuellement dans une société où les **nouveaux risques** sont **très difficiles à quantifier avec certitude** comme ceux liés aux **encéphalopathies spongiformes subaiguës animales : ESB, ou de la chèvre, Tremblante du Mouton, Maladie du dépérissement chronique des ruminants sauvages** (cervidés...) [57, 58].

De ce fait, surtout les **progrès de la Recherche** devraient sembler t'il pouvoir apporter quelques réponses aux angoisses de notre Société. Fait assez paradoxal, selon Didier **Witkowski** [55] malgré les **crises récentes** surtout **alimentaires** (vache folle, OGM, listériose, dioxines...), la **confiance des français dans la science se redresse**. En effet si depuis 30 ans, le septicisme des français face à la science, n'avait cessé de grandir, on observe actuellement d'après des **enquêtes** de la **Sofres** [55] un certain **retour de confiance dans la Science**. Ceci signifie donc que malgré les **différentes crises alimentaires** en particulier celle de la **vache folle, les citoyens font de nouveau confiance à la Science**, mais ces **crises** ont néanmoins modifié considérablement leur **rapport au risque et au savoir**.

Espérons que les **graves menaces potentielles** que font courir les **pollutions** de toute nature (pollution urbaine, pollution des eaux, des sols...) qui nous accablent de jour en jour, mais aussi les **épizooties** d'origine inconnue, qui peuvent apparaître, seront de plus en plus sérieusement intégrées dans la **démarche préventive**. Cette prise en

¹⁵ L'intitulé de l'Agence française de sécurité sanitaire environnementale (AFSSE) a été adopté par l'Assemblée nationale le 6 février 2001. La loi du 9 mai 2001 a créé l'AFSSE, qui a pour mission de contribuer à assurer la sécurité sanitaire dans le domaine de l'environnement, dans le but d'assurer la protection de la santé humaine. Il s'agit donc à la fois d'une agence d'objectifs et d'expertise. A ce jour, il ne semble pas que cette agence ait bénéficié d'un budget permettant sa réelle opérationnalité.

compte, tant par les **scientifiques**, en particulier par les **lanceurs d'alerte** (souvent accusés d'être des **alarmistes**, voire même, taxés par certains d'être des **extrémistes irresponsables** !) que par les **décideurs politiques**, devrait accélérer le **développement d'une réelle culture de sécurité** adaptée aux **situations de crise**.

Une partie de ce texte a été reprise de l'article d'André PICOT et Josyane GUÉRY "Un prix Nobel pour les Prions" paru dans l'Actualité Chimique **1**, p.7-18 [1998].

Tous mes remerciements à Jérôme TSAKIRIS et à Maurice RABACHE (CNAM, Paris) pour la mise en forme de ce premier dossier "Toxicochimie", à Jean Philippe DESLYS (CEA, Fontenay aux Roses) pour son aide essentielle, ainsi qu'à Ghislaine HAVARD et à Eric PICOT pour leur documentation pertinente, sans oublier nos amis agriculteurs dont certains vivent quotidiennement ce drame de la vache folle.

BIBLIOGRAPHIE, POUR EN SAVOIR PLUS

OUVRAGES GENERAUX

- 1_ a PRUSINER S.B, COLLINGE J., POWELL J., ANDERTON B. (1992)
Prion diseases of Humans and Animals.
Ellis Horwood, Chichester Ltd.
- 11_ PERUCCA F et POURADIER G. (2000)
Génération Vache folle.
Editions Ramsay, Paris
- b PRUSINER S.B (2004)
Prion biology and diseases.
2ème Edition. *Cold Spring Harbor, Laboratory Press*.
- 12_ LLEDO P.M. (2001)
Histoire de la Vache folle.
Presses Universitaires de France, Paris.
- 2_ BEAUVAIS P., BILLETTE DE VILLEMEUR T. (1996)
Maladie de Creutzfeldt-Jakob et autres maladies à prions.
Médecine-Sciences, Flammarion, Paris.
- 13_ DESLYS J.P et PICOT A. (2001)
Maladie de la Vache folle et Risques pour l'Homme.
Flammarion, Paris
Téléchargement libre de l'ouvrage :
<http://www.neuropriion.com>
- 3_ COURT L., DODET B. (1996)
Transmissible subacute spongiform encephalopathy : prion diseases.
Elsevier, Paris.
- 14_ a SCHWARTZ M. (2001)
Comment les vaches sont devenues folles ?
Editions Odile Jacob, Paris.
- 4_ HIRSCH M., DUNETON Ph., BARALON Ph., NOIVILLE F.(1996)
L'affolante histoire de la vache folle.
Ballad, Paris.
- b THILLIER J.L., JAILLETTE J.C, (2003)
Le procès de la vache folle n'aura pas lieu
Hachette Littératures, Paris.
- 5_ COLLINGE J., PALMER M.S. (1997)
Prion diseases.
Oxford University Press, Oxford
- 6_ WICKNER R. (1997)
Prion diseases of mammals and yeast.
Molecular mechanisms and genetic features.
Springer, New York.
- 7_ KLITZMAN R. (1998)
The trembling Mountain. A personal account of Kuru, Cannibals and Mad Cow disease.
Plenum Trade, New York.
- 8_ KOPP N., TISSOT-GUERRAZ T., BARON Th. (1998)
Maladie de Creutzfeldt-Jakob, Maladie de la Vache folle.
Ellipses, Paris.
- 9_ CASSUTO J.P. (1999)
De la maladie de la Vache folle à celle de Creutzfeldt-Jakob.
Editions Odile Jacob, Paris.
- 10_ CHATEAURAYNAUD F et TORNY D. (1999).
Les sombres précurseurs. Une sociologie pragmatique de l'alerte et du risque.
- 19_ BRUCE M.E., WILL R.G., IRONSIDE J.W., McCONNELL I., DRUMOND D., SUTTLE

ARTICLES ORIGINAUX

- 15_ ALPER T. (1967)
Does the agent of scrapie replicate without nucleic acid ?
Nature, 214, p. 764-766.
- 16_ GRIFFITH J.S. (1967)
Self-replication and scrapie.
Nature, 215, p. 1043-1044
- 17_ LATARGET R., MUEL B., HAIG D., CLARKE M.C., ALPER T. (1970)
Inactivation of the scrapie agent by near monochromatic Ultra-violet light.
Nature, 227, p.1341-1343.
- 18_ PRUSINER S.B., HADLOW W.J., GARFIN D.E., COCHRAN S.P., RACE R.E.B., EKLUND C.M. (1978)
Partial purification and evidence for multiple molecular forms of the scrapie agent.
Biochemistry, 17, p. 4993-4999.

- A., McCARDEL L., CHREE A., HOPE J., BIRKETT C., COUSENS S., FRASER H. et BOSTOCK C.J. (1997)
 Transmissions to mice indicate that new variant CJD is caused by the BSE agent.
Nature, 389, p.498-501.
- 20_ COLLINGE J., SIDLE K., MEADS J., IRONSIDE J., HILL A. (1996)
 Molecular analysis of prion strain variation and the aetiology of new variant CJD.
Nature, 383, p.685-690.
- 21_ a AGUZZI A. (1997)
 Neuro-immune connection in spread of prions in the body ?
Lancet, 15 mars, 349, p. 742-743.
- b AGUZZI A., WEISSMANN Ch. (1997)
 Prion research : the next frontiers.
Nature, 389, p.795-798.
- 22_ CUIILLÉ J., CHELLE P.L. (1936)
 La maladie dite tremblante du mouton est-elle inoculable?
Comptes rendus de l'Académie des Sciences, 203, p.1552-1554.
- 23_ PRUSINER S. (1982)
 Novel proteinaceous infectious particle cause scrapie.
Science, 216, p. 136-144.
- 24_ a PURDEY M. (1995)
 The UK epidemic of BSE : slow virus or chronic pesticide initiated modification of prion protein ?
Part 1. Part 2. Medical hypotheses, 46, p. 428-443 et p. 445-454.
- b PURDEY, M. (1998)
 High dose exposure to systemic Phosmet insecticide modifies the phosphatidylinositol anchor on the prion protein; the origins of new variant transmissible spongiform encephalopathy
Med Hypotheses, 50, p.91-111.
- c PURDEY, M. (2000)
 Ecosystems supporting clusters of sporadic TSES. Demonstrate excesses of the radical-generating divalent cation manganese and deficiencies of antioxidant co factors Cu, Se, Fe, Zn.
Medical Hypotheses, 54 (2) p.278-306.
- d PURDEY, M. (2000)
 Does an ultra violet photooxidation of the manganese-loaded/copper-depleted prion protein in the retina initiate the pathogenesis of TSE?
Medical hypotheses, 57, (1), p. 29-45
- 25_ a WELLS, G.A.H., SCOTT, A.C. JOHNSON, C.T et coll. (1987)
 A novel progressive spongiform encephalopathy in cattle.
Vet.Rec., 121, p.419-420
- b WILESMITH J.W., WELLS, G.A.H., CRANWELL, M.P et RYAN, J.B.M. (1988)
 Bovine spongiform encephalopathy epidemiological studies
Vet. Rec., 123, p. 638-644.
- c WILESMITH J.W., RYAN J.B.M., ATKINSON M.J. (1991)
 Bovine spongiform encephalopathy : epidemiological studies on the origin.
Vet. Rec., 128, p. 199-203.
- 26_ a LASMEZAS C., DESLYS J.P., ROBAIN O., DORMONT D. (1997)
 L'agent secret des maladies à prions.
La Recherche, Juin 1997, p. 46-52.
- b DESLYS, J.P.(1998)
 Les maladies à Prions dans : "Les Sociétés Cellulaires".
Dossier Pour la Science, Hors Série, Avril 1998, p.110-116.
- c MOUTON F., DESLYS. (Nov 2004)
 Les maladies à prions : les risques pour l'Homme.
Pour la Science, n° 325, p 44-49
- 27_ a DORMONT D., BRUGERE-PICOUX J., CHATELAIN J., LAPLANCHE J.L., DESLYS J.P. (1992).
 Les encéphalopathies spongiformes : de la Vache folle à l'Homme.
La Recherche, Avril 1992, 23, p. 446-453.
- b DORMONT D., ALPEROVITCH A. (1996)
 Maladie de la Vache folle, maladie de Creutzfeldt-Jakob: la parole aux scientifiques.
Recherche et Santé, 68, p. 12-19.
- c DORMONT.D. (2000)
 Les Prions
Virologie, 4, p.5-9.
- 28_ a PRUSINER S.B. (1994)
 Biology and genetics of prion diseases.
Ann. Rev. Microbiol., 48, p. 655-686.
- b PRUSINER S. (1995)
 Les maladies à prions.
Pour la Science, n° 209, mars 1995, p. 42-50.
- c PRUSINER S. (2004)
 Les tests de détection de la maladie de la vache folle.
Pour la Science, n° 325, p 50-55.

- d PRUSINER S.B., DEARMOND., et COHEN F.E., (1998)
Prion Protein biology
Cell, 93, 337-348
- 29_ ALPEROVITCH, A. (2001)
Encéphalopathies spongiformes transmissibles, état actuel des connaissances .Rencontres Scientifiques Franco-anglaises pour établir l'état des connaissances sur les Encéphalopathies Spongiformes transmissibles.
Colloque Académie des Sciences de l'Institut de France, Paris, 14-16 mars 2001, p.49-51.
- 30_ a COLLINGE, J.(1996)
Grand round: Creutzfeldt -Jakob disease in a young woman.
Lancet, 347, p.945-948.
- b COLLINGE J., SIDLE K.C.L., MEADS J., IRONSIDE J., HILL A.F. (1996)
Molecular analysis of prion strain variation and the etiology of new variant CJD.
Nature, 383, p. 685-690.
- c COLLINGE, J. (2000)
Prion diseases of humans and animals : their causes and molecular basis.
Ann. Rev of Neurosciense. 24, p. 519-550.
- d JACKSON, G.S et COLLINGE, J. (2001)
The molecular pathology of CJD : old and new varaints.
J.Clin.Pathol: Mol Pathol. 54, p, 393-399
- 31_ YON KAHN J. (1996)
Le prion.
Regard sur la biochimie, 3, p. 12-18.
- 32_ COLLINGE J., WHITTINGTON M.A., SIDLE K.C., SMITH C.J., PALMER M.S., CLARKE A.R., JEFFERYS J.G. (1994)
Prion protein is necessary for normal synaptic function.
Nature, 370, p, 295-297.
- 33_ MOUILLET-RICHARD S., ERMON VAL., CHEBASSIER C., LAPLANCHE J.L., LEHMANN S., LAUNEY J.M et KELLERMANN O. (2000)
Signal Transduction though prion protein.
Science 289, n° 5486, p. 1925-1928
- 34_ a NGUYEN J., BALDWIN M.A., COHEN F.E., PRUSINER S.B. (1995)
Prion protein peptides induced alpha-helix to beta-sheet conformational transitions.
Biochem. J., 34, p. 4186-4192.
- b LAURENT M.(1996)
Les maladies à prions : l'hypothèse de la "protéine seule" et ses conséquences dynamiques.
Médecine / Sciences, 12, p. 774-785.
- c LEHMANN S. (1996)
Le rôle de la protéine du prion dans les encéphalopathies spongiformes transmissibles humaines
Médecine/Sciences, 12, p. 949-958.
- 35_ HUANG Z., PRUSINER S., COHEN F. (1995)
Scrapie prions : a three dimensional model of an infectious fragment.
Folding and Design, 1, p. 13-19.
- 36_ a RIEK, R.,HORNEMANN, S., WIDER, G., BILLETER, M., GLOCKSHUBER, R et WÜTHRICH, K. (1996)
NMR structure of the mouse prion protein domain PrP(121-231).
Nature, 382, p.180-182.
- b RIEK, R.,HORNEMANN, S., WIDER, G., GLOCKSHUBER, R et WÜTHRICH, K. (1997)
NMR characterization of the full length recombinant murine prion protein in PrP (23-231).
FEBS Lett. 413, p.282-288.
- c ZAHN, R., LIU, A., LÜHRS, T., RIEK, R., VON SCHROETTER, C., LPEZ GARCIA, F., WIDER, G et WÜTHRICH, K. (2000)
NMR solution structure of the human prion protein.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 97, p. 145-150.
- 37_ a DONNE, D.G., VILES, J.H., GROTH, D., MEHLHORN, L., JAMES, T.L., COHEN, F.E., PRUSINER, S.B., WRIGHT, P.E et DYSON, H.J.(1997)
Structure of the recombinant full-length hamster prion protein Prp (29-231): The N terminus is highly flexible.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 94, p.13452-13457.
- b LIU, H., FARR-JONES, S., ULYANOV, N.B., LLINAS, M.,MARQUESEE, S., GROTH, D., COHEN, F.E., PRUSINER, S.B et JAMES, T.L.(1999)
Solution structure of Syrian hamster prion protein r Prp (90-231).
Biochemistry. 38, p.5362-5377.
- 38_ a BROWN, D., QIN, K., HERMS, J et coll.(1997)
The cellular prion protein binds copper in vivo.
Nature, 390, p.684-687.
- b BROWN, D., HA FIZ, F; GLASMITH, L., BOON-SENE W.; JONES, I., CLIVE, C., HASWELL, S. (2000).
Consequences of manganese replacement of copper for prion protein function and proteinase resistance.
The EMBO, J. 19. (6). p 1180-1186.
- c BROWN, D.(2001)

- BSE: a post-industrial disease ?
Chemistry & Industry. p73-76, 5 february 2001.
- d BROWN, D.(2001)
Metal and the Prion Protein. Les encéphalopathies Spongiformes transmissibles. *Colloque, Académie des Sciences de l'Institut de France, Paris*, 14-16 Mars 2001, p.10-11
- 39_ DAWSON, M.(2001)
BSE Diagnosis and the European Commission Programme of Test Development. Les Encéphalopathies spongiformes transmissibles. Colloque, Académie des Sciences de l'Institut de France Paris, 14-16 Mars 2001, p.60-61.
- 40_ LIAUTARD J. (1992)
Les prions sont-ils des protéines chaperonnes mal repliées ?
Médecine/ Sciences, 8, p, 55-57.
- 41_ CAUGHEY B., CHESEBRO B. (1997)
Prion protein and the transmissible spongiform encephalopathies.
Trends in Cell Biology, 7, p. 56-62.
- 42_ a BROWN D.R., SCHMIDT B., KRETZSCHMAR H. (1996)
Role of microglia and host prion protein in neurotoxicity of a prion protein fragment.
Nature, 380, p. 345-347.
- b BROWN D.R., CLIVE C., et HASWELL S.J. (2001)
Antioxidant activity related to copper binding of native prion protein.
J Neurochem. 2001 Jan, 76(1):69-76
- 43_ SABORIO. G., PERMANNE. B et SOTO, C. (2001)
Nature, vol 411.
- 44_ BOUSSET, L., BELRHALI, H., JANIN, J., MELKI, R et MORERA, S. (2001)
Structure of the globular region of the prion protein Ure 2p from the yeast *Saccharomyces cerevisiae*.
Structure, 9, p.39-46.
- 45_ DICKINSON, A. GETOUTRAM, G.W. (1988)
Genetic aspect of unconventional virus infections: the basis of the virino hypothesis.
Ciba Found Sym, 135,p.63-83.
- 46_ LASMÉZAS C., DESLYS J.P., ROBAIN O., JAEGLY A., BERINGUE V., PEYRIN J.M., FOURNIER J.G., HAUW J.J., ROSSIER J., DORMONT D. (1997)
Transmission of the BSE agent to mice in the absence of detectable abnormal prion protein.
Science, 275, p. 402-405.
- 47_ COLLEE G., BRADLEY R.
BSE : a decade on. (1997)
- a - Part 1 : *Lancet*, 349, p. 636-641.
b - Part 2 : *Lancet*, 349, p. 715-721.
- 48_ OMS.(1991)
Report of the WHO consultation on public health issues related to animal and human spongiform encephalopathies.
WHO/ CDS/ VPH/ 92, 1991, 104.
- 49_ a DICKINSON, A.G et TAYLORD, D.M.(1978)
Resistance of scrapie to decontamination.
N. Engl J Med, 299, p.1413-1414.
- b PICOT A.(1992)
Complément sur les risques biologiques : les prions, p. 421-422.
dans PICOT A., GRENOUILLET Ph.
La sécurité en laboratoire de chimie et de biochimie.
Tec-Doc Lavoisier, Paris.
- c DESLYS, J.P.(1999)
Prévention du risque d'encéphalopathie spongiforme subaiguë transmissible.
La Revue du Praticien (Paris), 49, p.966-970.
- d TAYLORD, D.M.(2000)
Inactivation of transmissible degenerative encephalopathy agents: A review.
The Veterinary Journal, 159, p.10-17.
- e TAYLORD, D.M.(2000)
Inactivation of the BSE Agent
Encephalopathies spongiformes transmissibles
Académie des Sciences de l'Institut de France.
Paris 14-16 mars 2001 p.67-69.
- 50_ AGUZZI A. et COLLINGE J. (1997)
Post-exposure prophylaxis after accidental prion inoculation.
Lancet, p. 1519-1520.
- 51_ BAUCE, M. (2000)
Dans " Adieu, veaux, vaches, moutons, élans, cerfs...?"
Courrier International, 525, 23-29, Novembre 2000.
- 52_ MAMERE, N et NARBONNE, J.F.(2001)
Toxiques Affaires : de la dioxine à la vache folle.
Edition Ramsay, Paris
- 53_ a MATRAT M., ABADIA G.(1996)
Les maladies à prions animales et humaines.
Documents pour le médecin du travail, 1996, 65, p. 41-45, INRS, Paris.
- b Circulaire DGS/DH n°100 du 11 décembre 1995 relative aux précautions à observer en milieu chirurgical et anatomopathologique face aux risques de transmission de la maladie de Creutzfeldt-Jakob.

- Documents pour le médecin du travail*, 1996, 65, p. 65-71, INRS, Paris.
- Rapport d'information déposé par la mission d'information commune de l'Assemblée Nationale sur l'ensemble des problèmes posés par le développement de l'épidémie d'encéphalopathie spongiforme bovine. (Dossier n° 3291 déposé le 15 janvier 1997), Président : Évelyne Guilhem, Rapporteur : Jean-François Mattei.
- 54_ a POCHON, A.(1999)
Les champs du possible. Plaidoyer pour une agriculture durable.
Editions Syros, Paris.
- b POCHON, A.(2001)
Les sillons de la colère. La malbouffe n'est pas une fatalité.
Editions Syros,(AlternativesEconomiqes)
Paris.
- 55_ WITKOWSKI, D. (2001)
Malgré les crises récentes, la confiance dans la science se redresse.
Le Monde, p11, 21aout 2001.
- 59_ CLARENCE, J et GIBSS, J.R. (2001)
Bovine Spongiform Encephalopathy.
Springer, New York.
- 60_ FENER, P. (2001)
Actualités sur les Encéphalopathies Spongiformes SubaiguësTransmissibles (maladies a prions)
Dossier de synthèse documentaire.
INIST, CNRS, Septembre 2001.
- 61_ SOBRAL VIQUEIRA, M. VIEILLE, P.
et THILLIER, J.P (2001)
De la Vache folle au Mouton fou.
Editions Siloë, 1 août 2001
- 62_ PEREZ J.M, AUMAITRE A, BARRIER -
GUILLOT B, DELAVEAU. A, GUEGUEN,
LARBIER M et SAUVANT D (2002)
Conséquences en élevage et pour le consommateur
du remplacement des farines et des graisses animales.
INRA Prod. Anim. 15, (2) 87-96
- 63_ DERRINGTON E.A,et DARLIX J.L.
The enigmatic multifunctionality of the prion protein.
Drug News Perspectives,15, 206-219.
- 64_ MANGE A, et LEHMANN S, (2002)
Nouveaux aspects de la biologie de la protéine prion
Medecine/ Sciences, 18, 1267-1275.
- 65_ ERDTMANN R, et SIVITZ L, (2004)
Advancing Prion Science:
Guidance for the National Prion Research Program
- 56_ Les encéphalopathies spongiformes transmissibles. (2001)
Dossier dans la lettre de l'Académie des Sciences n°1. p3 à 13.
- 57_ CESBRON, J.Y et FOSCH, J.P. (2001)
Les encéphalopathies subaiguës spongiformes transmissibles (ESST) ou maladie à prions.
Ed INSERM, Le Vésinet.
- 58_ PRIONS, DE LA VACHE FOLLE A L'HOMME. (Avril 2001).
Biofutur, Hors Série.

WEBOGRAPHIE

MHR Le site de référence de la Filière Viandes

<http://www.mhr-viandes.com/>

Prion et maladie de Creutzfeldt-Jakob

<http://www.mhr-viandes.com/fr/docu/docu/d0001467.htm>

CNRS - SDV/Dossier : Les Prions

<http://www.cnrs.fr/SDV/prionintro.html>

Vache folle en ligne (INRA)

<http://www.inra.fr/>

<http://www.inra.fr/Internet/Produits/dpenv/vchfol00.htm#crise>

AFSSA . AGENCE FRANÇAISE DE SÉCURITÉ SANITAIRE DES ALIMENTS

<http://www.afssa.fr/>

INRS

<http://www.inrs.fr/index fla.html>

INSERM

<http://www.inserm.fr/>

INVS. Institut de Veille Sanitaire

<http://www.invs.sante.fr/>

Ministère de l'Agriculture et de la Pêche

<http://www.agriculture.gouv.fr/alim/secu/plan/F3esb97.htm>

Ministère belge des Affaires sociales, de la Santé publique et de l'Environnement

http://www.health.fgov.be/CSH_HGR/

Réseau national de surveillance des maladies de Creutzfeldt-Jakob et maladies apparentées.

http://www.invs.sante.fr/publications/mcj/reseau_mcj.html

Commission européenne

Commission Staff Working Paper on Transmissible Spongiform Encephalopathies (TSEs)

<http://europa.eu.int/comm/health/ph/general/tse-en.htm>

Sites institutionnels anglais

Department of Health

<http://www.doh.gov.uk/>

National Institute of neurological disorders and stroke

<http://medhlp.netusa.net/NIHlib/GF-113.html>