

## IV- Les modes de transmission des ESST

Dans la lutte contre les ESST, les recherches sur les tissus des animaux infectés sources de transmission de la maladie et l'étude des transmissions horizontales et verticales sont indispensables.

### A- Les sources de transmission

Dans différentes maladies (tremblante du mouton, maladie du dépérissement chronique des cervidés, maladie de Creutzfeldt-Jakob) et dans différentes conditions d'infection (naturelle ou expérimentale), la PrPres peut être retrouvée dans divers organes.

En premier lieu, le système nerveux central (SNC) et les tissus lymphe-réticulaires sont les deux principales sources d'infection. En effet, des études ont montré que lors d'infection expérimentale de souris par voie non nerveuse, la PrPres est acheminée jusqu'au SNC via le système lymphe-réticulaire (Schelcher *et al.*, 2002).

Dans le système nerveux périphérique, la PrPres se dépose à des niveaux très variables. Elle est en effet très présente lors de tremblante classique du mouton, alors que dans la MCJ, son dépôt est très faible (Groschup *et al.*, 1999).

La présence de PrPres dans divers organes a été démontrée dans plusieurs études et sa localisation varie en fonction des ESST. En effet, pour la tremblante classique, on retrouve la PrPres à de faibles niveaux dans l'iléon, le côlon, la rate, les nœuds lymphatiques, les amygdales, la rétine, le thymus, la moelle osseuse, le foie, le poumon et le pancréas des animaux malades (Hadlow *et al.*, 1979). Dans la forme sporadique de la MCJ, la rate, le muscle strié squelettique ainsi que l'épithélium olfactif renferment de la PrPres (Aguzzi et Polymenidou, 2004). Enfin, dans la MDC, une accumulation de PrPres dans les organes lymphoïdes (nœuds lymphatiques, rate, amygdales, plaques de Peyer) est constatée (Sigurdson *et al.*, 2002 ; Wild *et al.*, 2002). En revanche, pour l'ESB, les recherches n'ont pas permis de mettre en évidence la PrPres en dehors du SNC chez les bovins, excepté dans la partie distale de l'iléon chez des veaux infectés expérimentalement (Somerville *et al.*, 1997).

En parallèle, l'infectiosité du placenta a été bien démontrée pour la tremblante, même si elle n'est pas constante (Race *et al.*, 1998). On a pu, en effet, détecter la PrPres placentaire jusqu'à 470 jours avant l'expression clinique chez la brebis. En revanche chez les bovins atteints d'ESB, aucune trace de PrPres n'a pu être mise en évidence dans le placenta, probablement lié à l'absence de contact entre les cellules trophoblastiques et le chorion maternel du placenta de cette espèce, ainsi qu'au fait qu'aucune accumulation périphérique de PrPres n'a pu être mise en évidence chez les bovins.

Enfin, l'infectiosité du lait est encore aujourd'hui controversée. Néanmoins en 2008, une étude a publié des résultats en faveur d'une transmission de la tremblante par le lait de brebis infectées (Konold *et al.*, 2008). Le lait de 12 brebis en phase asymptomatique de tremblante a été administré à 18 agneaux de génotype hautement sensible (VRQ/VRQ). Chez ces 18 agneaux nourris au lait de brebis infectées, on a retrouvé la présence de PrPres dans la muqueuse intestinale sans que les animaux ne déclenchent des signes cliniques. Une autre étude de 2011 montre également des résultats en faveur d'une transmission de l'agent de la tremblante dans le lait, mais chez des brebis infectées ayant une mammite intercurrente (Ligios *et al.*, 2011).

## B- Les modes de contamination

Les premières évidences de transmission des agents responsables des ESST ont été apportées par Cuillé et Chelle dès 1934 en inoculant des extraits de moelle épinière de brebis atteintes de tremblante à une brebis saine, laquelle développa une tremblante 15 mois plus tard (Cuillé et Chelle, 1936). Depuis le caractère transmissible des ESST est établi, justifiant les méthodes de lutte importantes mise en œuvre pour éradiquer ces maladies.

### 1- Transmission horizontale

La transmission horizontale des maladies à prion est aujourd'hui établie. L'exemple le plus frappant concerne la tremblante des petits ruminants. On parle de transmission horizontale directe lors de l'ingestion de placenta de brebis infectées par d'autres animaux du troupeau et de transmission horizontale indirecte lorsque ce sont les pâtures qui sont contaminées (Schelcher *et al.*, 2002). En 1979, une étude sur l'introduction de 140 agneaux provenant d'élevages indemnes dans un élevage infecté par la tremblante a montré l'apparition de signes cliniques de tremblante pour 5 d'entre eux dans un délai de 64 à 93 mois (Hourrigan *et al.*, 1979).

La résistance de la protéine prion dans le milieu extérieur est à l'origine des difficultés dans la lutte contre la transmission des ESST, en particulier dans les élevages ovins. A de nombreuses reprises, il a pu être noté que lors d'abattage total d'un troupeau suite à un épisode de tremblante, suivi d'un repeuplement, la maladie réapparaissait quelques années plus tard. Selon une étude faite par Georgsson *et al.* en 2006 en Islande, la tremblante est réapparue dans 33 fermes suite à un plan d'éradication avec abattage des animaux, désinfection et repeuplement seulement 2 ou 3 ans après à partir d'élevages sains. Neuf de ces rémanences se sont produites entre 14 et 21 ans suite à ce programme d'éradication, montrant une persistance à très long terme de l'agent de la tremblante même si une contamination par introduction ne peut être complètement exclue (Georgsson *et al.*, 2006). Il a même été prouvé qu'une association de la PrPres à des particules inorganiques du sol, telle que la montmorillonite ou d'autres aluminosilicates, augmente l'infectiosité. L'association montmorillonite/PrPres entraîne une meilleure transmission par voie orale que la PrPres seule. Cela pourrait être expliqué par une possible protection de la PrPres par la montmorillonite dans le tube digestif ou une facilitation de l'endocytose de la PrPres par la montmorillonite (Johnson *et al.*, 2007).

La tremblante est l'exemple classique du risque de transmission horizontale des ESST. Mais pour d'autres ESST comme l'ESB, la transmission entre individus est très majoritairement liée à l'ingestion de produits contenant de grandes quantités de PrPres comme les farines animales. Dans le cas de la MCJ, la transmission peut avoir lieu par la contamination des instruments de neuro-chirurgie ou lors de l'utilisation thérapeutique d'hormones de croissance par exemple, mais n'a pas été observée entre les individus.

### 2- Transmission verticale

Il est difficile de déterminer ce qui ressort d'une transmission verticale *sensu stricto* de la PrPres (transplacentaire au cours de la gestation) par rapport à toutes les contaminations post-natales (allaitement, contact avec la mère et les eaux fœtales,...).

En 2002, le premier cas de transmission verticale de la tremblante a été observé sur une brebis contaminée. La brebis était gestante à son arrivée et suspecte de tremblante. L'agnelage de la brebis a été difficile et a nécessité l'intervention d'une équipe, ce qui a permis l'isolement immédiat de l'agnelle et son allaitement avec des lactoreplaceurs, limitant toute contamination horizontale. La brebis est décédée peu de temps après et la tremblante a pu être ainsi confirmée. A l'âge de 6 mois, l'agnelle a montré des signes de tremblante. Suite à son euthanasie, il a été confirmé par Western Blot et examen immuno-histochimique qu'elle était atteinte de tremblante avec un génotype ARQ/VRQ. Ce cas prouve ainsi qu'il existe une transmission verticale de la tremblante et que le temps d'incubation est particulièrement court (6 mois) (Couquet *et al*, 2005).

Chez les vaches atteintes d'ESB, la présence de PrPres dans les organes génitaux n'a pas été démontrée. Cependant, une étude épidémiologique au Royaume-Uni a montré que 10% des veaux nés de mère infectées développaient la maladie, sans pouvoir prouver que les veaux étaient infectés *in utero* (Bradbury, 1996). En 2005, l'équipe de Castilla a néanmoins pu prouver que chez des souris transgéniques infectées par l'agent de l'ESB les nouveau-nés présentaient des dépôts de PrPres dans leur cerveau (Castilla *et al*, 2005a).

Enfin, dans le cadre de recherches sur le nvMCJ, aucune transmission verticale n'a pu être mise en évidence pour le moment chez les enfants nés de mères malades. Neufs de ces enfants ont pourtant été conçus alors que la mère présentait des symptômes du nvMCJ. Néanmoins la durée d'incubation de la maladie oblige à la réserve quant à ces résultats (Murray *et al.*, 2011).



## V- Les méthodes de diagnostic des ESST

La plupart des méthodes de diagnostic sont basées sur la recherche de la PrPres, marqueur moléculaire des ESST. Cependant, sa détection par des méthodes sérologiques classiques est rendue difficile par sa ressemblance antigénique avec son homologue cellulaire, la PrPc.

### A- La suspicion clinique

Aucun symptôme présenté par les individus atteints par une ESST n'est spécifique de la maladie. Néanmoins, la plupart des patients vont présenter des troubles neurologiques. C'est l'ensemble du tableau clinique du patient qui, associé aux résultats des examens *ante-mortem* pratiqués, permet de suspecter l'atteinte par une maladie à prion.

Les données épidémiologiques ont également une grande importance pour suspecter une maladie à prion. Ainsi, à titre d'exemple, dans le diagnostic de l'ESB l'animal sera âgé de plus de 2 ans (la durée d'incubation de la maladie étant de 2 à 5 ans), souvent le seul atteint ou tout du moins des cas sporadiques et possiblement dans une région ou un élevage considérés comme à risque, avec par exemple une alimentation à base de farines animales lorsque cela était encore autorisé.

### B- Les tests *ante-mortem* ou d'orientation

Le développement de tests *ante-mortem* fiables est l'une des priorités dans la lutte contre les ESST. Malheureusement, il n'existe actuellement aucun test convenable pour la détection des maladies à prion chez l'Homme et l'animal. L'absence de réaction immunitaire de l'organisme vis-à-vis de la PrPres est la difficulté majeure rencontrée pour la mise au point de tests *ante-mortem*. Mais d'autres marqueurs (notamment présents dans le liquide céphalorachidien) ont une sensibilité et une spécificité toute à fait correcte. En associant et en confrontant à la clinique les résultats de différents tests, on peut établir un diagnostic d'un assez bon indice de certitude.

#### 1- Chez l'Homme

L'électroencéphalogramme (EEG) est l'examen *ante-mortem* le plus caractéristique. Les anomalies associées à la MCJ sont des ondes triphasiques d'aspect pseudo-périodique. Cependant, ces ondes ne sont observées que dans 70% des cas et ne sont pas retrouvées chez les patients atteints du nvMCJ. Cette méthode reste malgré tout très employée, car elle est facile d'accès et peu invasive (Adjou *et al.*, 2005 b).

Le développement de l'imagerie médicale, et en particulier de l'imagerie par résonance magnétique (IRM,) a permis surtout de faire le diagnostic différentiel avec les autres maladies atteignant le système nerveux central. De plus, l'IRM semble assez intéressante car elle montre une atteinte sévère des ganglions de la base, lésion apparaissant relativement spécifique de la MCJ (Adjou *et al.*, 2005 b).

Enfin, la présence de marqueurs spécifiques dans le LCR est recherchée. En cas d'ESST et en particulier lors de MCJ sporadique, diverses protéines peuvent être retrouvées de façon anormalement importante dans le LCR (protéine Tau, émolase spécifique des neurones, protéines de la famille 14.3.3) (Adjou *et al.*, 2005 b).

## 2- Chez l'animal

Chez l'animal, les tests *ante-mortem* sont peu représentés. La préoccupation principale est d'éviter la transmission à l'Homme. Ainsi, chez l'animal, la priorité est plutôt l'élaboration de tests *post-mortem* performants et utilisables à grande échelle. Cependant, le diagnostic par biopsie (amygdale, nœud lymphatique périphérique,...) puis analyse histologique est réalisable chez les petits ruminants et les cervidés (Gavier-Widen *et al.*, 2005).

### *C- Les tests post-mortem ou de confirmation*

Les techniques utilisées permettent de mettre en évidence soit les lésions histologiques caractéristiques des ESST, soit la présence de PrPres, soit l'agent transmissible par inoculation à l'animal de laboratoire.

En premier lieu, l'histopathologie a pour but de rechercher les lésions caractéristiques des ESST (spongiose, astrogliose, plaques amyloïdes) à partir de prélèvements de tissus nerveux voir de tissus lymphoïdes périphériques. L'aide de l'immunohistochimie permet d'observer les dépôts de PrPres.

Ensuite la technique d'électrophorèse Western-Blot à partir de prélèvements de tissus nerveux centraux permet la détection de la PrPres après traitement à la protéinase K.

Enfin l'étude du développement de signes cliniques chez l'animal de laboratoire à qui un homogénat de tissu à étudier a été injecté permet de mettre en évidence la présence de l'agent responsable des ESST avec la meilleure sensibilité. Les inconvénients de cette technique sont liés aux délais d'incubation de la maladie avant les signes cliniques qui sont très longs, variant de quelques mois à quelques années, et des problèmes de barrière d'espèce.

### *D- Les tests rapides*

Les précédentes techniques présentées peuvent difficilement être adaptées à l'automatisation et à la rapidité nécessaire pour réaliser de très nombreux tests, en particulier en abattoir suite à la crise de l'ESB. Ainsi ont été développés des tests rapides, basés sur la détection immunologique de la PrPres.

On peut citer des tests utilisant un dosage de type ELISA où la PrPres est immobilisée sur un support solide puis mise en présence de protéinase K. La détection de la PrPres est possible grâce à un anticorps polyclonal dirigé contre une séquence peptidique caractéristique de la PrP (Deslys et Grassi, 2005).

D'autres tests utilisent la technique du Western Blot adaptée à un format industriel et permettant l'analyse de nombreux échantillons (Deslys et Grassi, 2005).

La sensibilité et la spécificité de ces tests rapides s'est révélée proche de 100% (Moynagh et Schimmel, 1999).

## *E- Le développement de tests sanguins*

Les tests rapides préalablement évoqués ne peuvent être mis en pratique sur des animaux vivants, car il faut des échantillons de tissus nerveux centraux. Ceci n'est pas nécessairement problématique pour les bovins chez qui, l'excrétion en dehors du système nerveux central est très limitée et qui représente peu de risque de contamination par voie orale dans cette période. Le problème est différent chez les petits ruminants les tissus lymphoïdes et nerveux périphériques sont envahis par les prions dès la phase précoce de la maladie. Ainsi, ces tissus seraient sans doute les meilleurs candidats pour un test « périphérique », cependant ils sont également difficiles à prélever pour un test sur animal vivant (Grassi, 2003).

Les recherches se portent donc sur la détection de la PrPres dans le sang. A l'heure actuelle, on n'a pu que supposer la présence de très faibles quantités de PrPres dans le sang (estimées à 1000 voire 10000 fois plus faibles que dans le cerveau).

En 2005, un test de laboratoire pratiqué sur le sang de hamsters contaminés par l'agent de la tremblante a montré une sensibilité de 89% et une spécificité de 100%, premiers résultats prometteurs dans l'élaboration de tests non invasifs dans la détection précoce des maladies à prion (Castilla *et al.*, 2005b).

Plus récemment, un test immunologique pour détecter la protéine prion pathologique du nvMCJ a été étudié. Des homogénats de cervaux infectés par le nvMCJ ont été dilués dans le plasma sanguin humain et l'agent responsable de la maladie a été retrouvé pour des dilutions allant jusqu'à  $10^{-10}$ . Enfin, ce test a été pratiqué sur le sang de patients humains en phase symptomatique du nvMCJ et a montré une sensibilité de 70% et une spécificité de 100% (Edgeworth *et al.*, 2011). Ces résultats sont encourageants pour la mise au point d'un test sanguin suffisamment sensible pour détecter le nvMCJ chez des patients asymptomatiques, et plus largement pour détecter les protéines prions pathologiques dans le sang des individus en phase asymptomatique.

Aujourd'hui, malgré l'avancée des connaissances sur la physiopathogénie des ESST, des zones d'ombre demeurent.

Grâce à l'ensemble des mesures prises pour lutter contre l'avancée de l'ESB, l'épidémie devrait s'éteindre d'ici quelques années. La sélection génétique des ovins, bien qu'efficace pour lutter contre la tremblante classique, montre ses limites pour lutter contre la forme atypique de la tremblante. La maladie du dépérissement chronique des cervidés reste un problème en Amérique du Nord du fait de sa contagiosité, et les craintes d'une épidémie mondiale sont grandes. Enfin, les ESST humaines, malgré leur faible incidence, demeurent indétectables avant la phase symptomatique de la maladie et leur issue est toujours fatale.

Ainsi, les recherches en parallèle d'un test diagnostic *ante-mortem* fiable et d'un traitement efficace contre les ESST revêtent une importance capitale.

MCours.com