

Article paru dans INRA mensuel n°101 (juin-juillet 1999). En septembre 2000, les chercheurs de l'INRA engagés dans les recherches sur les encéphalopathies animales ont fait le bilan de leurs résultats lors d'un séminaire interne à l'institut. Le point sur les travaux présentés lors de ce séminaire figure page 20.

Les encéphalopathies spongiformes transmissibles et les prions : recherches engagées à l'INRA Bilan de la mobilisation des équipes et premiers résultats

Jean-Michel Elsen

INRA, Station d'Amélioration génétique des Animaux, BP 27, 31326 Castanet-Tolosan Cedex

L'épidémie d'Encéphalopathie Spongiforme Bovine (ESB) a commencé en 1985 au Royaume Uni et atteint à ce jour plus de 170 000 têtes dans ce pays. Elle a également été diagnostiquée en Suisse, en Irlande, au Portugal et en France. Ce que les médias ont appelé la "crise de la vache folle" a été déclenchée le 20 mars 1996 avec l'annonce par le ministère de la Santé anglais de la transmission vraisemblable de cette pathologie à l'homme. Elle s'est traduite aussitôt par une grande méfiance des consommateurs vis-à-vis de la viande bovine et par une chute importante de la consommation. Depuis, l'actualité de cette maladie demeure très vive en Europe : nouveaux cas, éventuelles transmissions par le lait, le sang, entre espèces, rôle du cuivre, tests de dépistage...

Les maladies "à prions", ou Encéphalopathies Spongiformes Subaiguës Transmissibles (ESST) (Creutzfeldt-Jakob, Gerstmann-Straussler-Scheinker et Insomnie Fatale Familiale chez l'homme, tremblante ovine et caprine, maladie de la vache folle) se caractérisent par l'absence de réaction immunitaire compliquant le diagnostic, l'absence de traitement, une longue durée d'incubation, leur issue toujours fatale et la variabilité de leur expression.

L'agent des ESST étant encore inconnu, l'hypothèse dominante est celle de leur transmission par une protéine infectieuse, la protéine du Prion (PrP, initialement pour Protease resistant Protein). La protéine PrP est par ailleurs à l'état normal une protéine constitutive de l'hôte, de fonction encore indéterminée.

Cette protéine est polymorphe. La sensibilité de l'hôte varie avec son génotype au gène *PrP*, notamment chez les ovins. Le développement d'une ESST s'accompagne d'une accumulation dans le cerveau d'une forme tridimensionnelle anormale, difficilement dégradable, de la protéine PrP. Cette forme anormale est appelée PrP^{Sc} pour PrP-scrapie ou PrP^{Res} pour PrP-résistante aux protéases).

L'engagement de l'INRA

L'engagement possible de l'INRA sur l'ESB avait été envisagé dès 1990 par Jacques Laporte (département de Pathologie animale) puis François Grosclaude (directeur des Productions animales). A la suite de nombreuses discussions, notamment au niveau du ministère de la recherche, l'institut avait pris

en 1994 la décision d'engager le département de pathologie animale dans un programme de recherche sur la tremblante du mouton, le CNEVA souhaitant à cette époque s'intéresser essentiellement à l'encéphalopathie bovine. Cette prise de position tardive était en cohérence avec le très faible nombre de cas d'ESB en France. Les généticiens avaient entrepris une étude ponctuelle dans les années 80 sur l'influence du système majeur d'histocompatibilité sur la sensibilité à la tremblante (ESST) des ovins et avaient apporté une aide statistique au laboratoire de biochimie de l'hôpital Saint-Louis pour lequel la tremblante ovine était un modèle pour la maladie de Creutzfeldt-Jakob. Depuis 1993, sollicité par les sélectionneurs de brebis laitières, et faisant face à une épidémie spectaculaire dans un de ses troupeaux ovins (domaine de Langlade près de Toulouse), le département de Génétique animale s'était engagé dans des travaux plus importants sur la variabilité génétique de la sensibilité à la tremblante⁽¹⁾.

Cette faible mobilisation de l'INRA lui avait été reprochée par une commission parlementaire en 1996. Le séminaire sur les recherches engagées par l'institut sur les ESST en septembre 1998 fait apparaître un bilan très positif qui montre une forte mobilisation sur le sujet : 26 actions de recherche ont été recensées, 21 unités de recherche et 4 unités expérimentales sont impliquées dans six départements, des collaborations sont en cours avec le CEA, l'INSERM, le CNRS, les Ecoles vétérinaires, l'Ecole des Mines, le CNEVA, l'Institut de l'Elevage, LABOGENA ... et de nombreux laboratoires européens.

Cette mobilisation a été soutenue par des financements INRA (près de 2 000 kF dégagés depuis 1996) et par divers appels d'offres nationaux et internationaux. Un programme national interorganismes coordonné par l'INSERM a été mis en place sous la direction de Dominique Dormont : en automne 1996, une série de séminaires ouverts a permis de définir et de lancer des appels d'offre selon 5 thèmes complémentaires (Physiopathologie

des ESST, Biologie fondamentale des ATNC (pour Agent Transmissible Non Conventionnel), Sociologie et gestion du risque dans le contexte de la crise liée à l'ESB, Recherche en sécurité et thérapeutiques, Epidémiologie des ESST). Après évaluation, seize des vingt projets soumis par des équipes INRA ont été retenus pour financement. Par ailleurs, la commission européenne a organisé trois appels d'offre coordonnés entre les programmes BIOTECH, BIOMED et FAIR, avec une dotation très importante. L'INRA participe ainsi à 10 projets européens, dont 6 comme coordinateur.

Les travaux en cours ont des objectifs très variés :

- élaboration d'outils de recherche qui pourront être mis au service de la communauté scientifique,
- acquisition de connaissances sur la pathogénie et la transmission de la maladie,
- mise au point d'outils de diagnostic et de moyens de contrôle.

Par ailleurs, des études sociologiques sont également en cours, concernant d'autres facettes de ce problème : décisions publiques, rôle des experts, aspects médiatiques...

Elaborer des outils

Les outils en cours de constitution peuvent être regroupés selon leurs applications potentielles :

- **détecter plus efficacement** la protéine-prion à des fins diagnostiques ou pour des études telles qu'une cinétique de l'infection ou la différenciation des formes normales et pathologiques de la protéine-prion. Plusieurs équipes [1, 2, 3, 4] collaborent pour développer des anticorps monoclonaux contre des peptides de PrP ovine, correspondant notamment à la région de la protéine-prion dont le polymorphisme (codons 136, 154 et 171) se traduit par des différences de sensibilité des animaux à la maladie. La purification en quantité raisonnable de la forme non pathologique de la protéine PrP, permettant des études struc-

⁽¹⁾ La tremblante est connue en France depuis 1732. En 1936, deux vétérinaires français, Cuille et Chelle, ont établi que la maladie était transmissible au sein de l'espèce ovine. Aucun cas de transmission à l'homme n'a été signalé depuis plus de deux siècles.

Représentation de la forme normale de la protéine PrP (à gauche) et de la forme infectieuse (à droite). Repris de 'Dossiers de l'environnement' n° 13.



turales, devrait bientôt aboutir. De nombreux anticorps monoclonaux ont été obtenus et deux d'entre eux sont déjà largement utilisés, notamment en immunochimie. La mise au point et la standardisation des méthodes d'immunohistochimie (prétraitement pour éliminer la PrPc (forme normale de la protéine-prion), choix des conditions de fixation des échantillons...) sont une des préoccupations importantes des laboratoires [3,16], et s'inscrivent dans un cadre européen (action concertée CT976056 coordonnée par Frédéric Lantier). Les anticorps disponibles font l'objet de caractérisation sur des coupes de cerveaux et de tissus lymphoïdes d'animaux présentant les signes cliniques et les lésions (vacuolisation) caractéristiques de la tremblante. Ces premiers travaux ont d'ailleurs révélé que certains moutons peuvent développer la maladie malgré une faible expression de la PrPsc au niveau du cerveau.

- **caractériser l'agent infectieux** de la tremblante. Un polymorphisme des isolats de prions a été montré dès 1968 par nos collègues du Royaume Uni, avec un protocole de caractérisation lourd consistant en l'inoculation d'un isolat à plusieurs lignées différentes de souris (généralement après une succession d'inoculations (mouton-souris-souris-souris) d'extraits cérébraux permettant de stabiliser le comportement de la souche d'EST) et en

l'observation des durées d'incubation et des profils des lésions. Les lignées de souris de référence ont été obtenues auprès du NPU (Neuro Pathogenesis Unit) d'Edimbourg et multipliées [3]. Ce modèle est pleinement disponible à l'INRA depuis fin 1998. Il est notamment utilisé dans le cadre d'un des projets financés par l'Union européenne (PL973305 coordonné par Jean-Michel Elsen).

- **titrer l'agent infectieux** de la tremblante. Un " modèle souris " est aussi généralement utilisé dans ce but, les extraits potentiellement infectieux n'étant à ces fins inoculés qu'en un passage et à une seule souche de souris. Avec l'espoir d'augmenter la puissance de ce modèle en diminuant la " barrière d'espèce " et de raccourcir les durées d'incubation, plusieurs équipes [1, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 29] préparent des souris transgéniques exprimant le gène PrP du mouton ou de l'homme (allèles ovins VRQ ou ARQ de forte ou moyenne sensibilité, gène PrP humain).

Dans le même ordre d'idée, un lapin transgénique porteur du gène PrP ovin est en cours de fabrication, afin d'explorer les raisons pour lesquelles cette espèce est indemne de maladie à prion. Cette multiplicité des approches augmente les chances d'obtenir une lignée de souris transgénique fonctionnelle.

- **étudier l'infection au niveau cellulaire**. Trois équipes [1, 8] établissent des lignées cellulaires ovines selon différents modèles. De telles lignées permettraient de s'affranchir des travaux sur l'animal entier et accéléreraient les travaux sur les conséquences de l'infection sur la physiologie cellulaire. Elles seraient aussi une alternative aux outils de détection d'infectiosité. Ici aussi plusieurs approches sont poursuivies, toutes basées sur l'obtention de cellules dérivées du système nerveux central : immortalisation de cellules embryonnaires ovines, de cellules primaires provenant de moutons infectés, d'astrocytes de souriceaux transgéniques, de cellules neurales embryonnaires bovines. Des clones surexprimant PrP sont en cours de sélection. Ces travaux sont en partie financés par un contrat européen (PL976064 coordonné par Hubert Laude).

- génotyper le gène PrP. C'est un outil précieux pour identifier les allèles du gène *PrPc* présents et évaluer le potentiel de résistance ou de sensibilité de l'individu à la tremblante. Une collaboration entre plusieurs laboratoires [11, 12, 13, 14] a permis la mise en place par LABOGENA d'un génotypage à grande échelle du gène PrP chez les ovins. Ce génotypage qui identifie les variations connues aux codons 136, 154 et 171, peut être utilisé à des fins de recherche (effet du génotype PrP sur la sensibilité à la tremblante...), de sélection et de surveillance dans le cadre du réseau national de surveillance de la tremblante. A ce jour, plus de 7500 animaux ont été génotypés.

- déterminer la biogénèse de la forme anormale de la protéine PrP. Parmi les pistes possibles, une recherche de molécules d'acide nucléique pouvant interagir avec la protéine PrP ovine, est envisagée [3,1]. Ceci pourrait permettre une mise en évidence des différences structurales distinguant les allèles sensibles et résistants, et serait éventuellement utile à des fins de diagnostic (ligands nucléiques de la protéine PrP). Une méthode (SELEX pour Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment) consistant de façon itérative à créer un large répertoire d'oligonucléotides et à les sélectionner sur leur affinité pour les variants sensibles et résistants de la protéine PrP est en cours d'optimisation.

Acquérir des connaissances sur cette pathologie

Les connaissances sur la physio-pathologie sont encore très imparfaites et, par diverses actions de recherche, l'INRA s'est donné les moyens de contribuer à leur acquisition. Ces travaux concernent différents aspects.

Caractérisation de la protéine-prion et de son gène

Certains aspects, de nature plus fondamentale, visent la caractérisation de la protéine-prion et de son gène, ainsi que d'autres zones du génome pouvant jouer sur la sensibilité aux ESST.

La dynamique de la conformation de la protéine PrP est un élément crucial des EST puisque les formes pathologiques (PrP^{Sc}) et normales (PrP^C) de PrP diffèrent par leur contenu en hélices α et en feuillets β . Cet aspect est abordé [2, 4] en explorant les modifications de conformation de certains peptides de PrP en solution. Un des peptides synthétisés, qui adopte une structure partiellement en hélices α dans la protéine et possède une structure stable en feuillets β en solution, pourrait jouer un rôle important dans les modifications de conformation de la protéine PrP.

L'existence de plusieurs allèles de PrP^C ovine conférant des sensibilités différentes à la tremblante est une clé pour l'analyse de cette dynamique de conformation. Trois équipes [4, 1, 3] sont parties de cet a priori pour étudier les modifications de PrP, avec pour objectif d'identifier l'influence de paramètres tels que le pH, la pression hydrostatique ou la température sur l'équilibre PrP^C-PrP^{Sc} selon l'allèle et ont montré une différence de structure tertiaire des protéines selon qu'elles sont codées par l'allèle ARR ou l'allèle VRQ.

Ces approches ne doivent pas occulter la possibilité d'une variabilité de l'expression du gène codant la protéine PrP, par exemple selon les allèles liés à des différences de sensibilité. Cette approche est prise en charge par une équipe [5] qui s'est fixé pour but de rechercher des transcrits spécifiques de la maladie dans le cerveau des animaux atteints, de génotypes variés.

A un niveau encore supérieur, nous ne devons pas exclure aujourd'hui que d'autres gènes que PrP puissent influencer la sensibilité à la tremblante. L'observation d'une telle variabilité ouvrirait de nouveaux champs d'investigation pour les pathologistes et offrirait des solutions alternatives à la sélection pour la résistance à cette pathologie aux généticiens appliqués. Un projet associant trois laboratoires [5, 11, 30] aborde cette question : une recherche systématique de type détection de QTLs (Quantitative Trait Locus = gène à effet quantitatif) est programmée sur des familles d'ovins demi-germains de père élevés dans un milieu très contaminé (domaine de Langlade),

et une approche de type " gène candidat " portant sur le système majeur d'histocompatibilité est en cours. Une première famille est disponible, un panel de marqueurs microsatellites a été organisé, et plus de 300 animaux ont déjà été caractérisés pour le Complexe Majeur d'Histocompatibilité.

Enfin, si le gène PrP est relativement bien conservé chez les mammifères, son existence n'est pas encore démontrée pour toutes les espèces animales, notamment chez les poissons. Pour confirmer des résultats obtenus par des équipes étrangères, une de nos équipes [15] a analysé l'expression d'antigènes prions chez la truite et le Médaka (poisson d'aquarium modèle). Des clones ont notamment été isolés par criblage d'une banque d'expression du cerveau de truite, à l'aide d'un anticorps commercial monoclonal produit chez la souris ; ils ont été séquencés et se révèlent être des protéines sans homologie avec PrP. L'ensemble des résultats ne permet pas à ce jour de confirmer ou d'infirmer l'existence d'une protéine PrP chez les espèces de poissons étudiées.

Les expérimentations sur la tremblante naturelle des ovins ou sur la souris après infection expérimentale peuvent apporter des éléments d'information importants sur la physiopathologie des ESST. Elles seront mises en oeuvre [3] pour évaluer le rôle du système immunitaire dans leur pathogénie. Ce rôle peut être double : dans la dissémination de l'agent infectieux (les souris immunodéficientes (SCID) résistent mieux à l'infection ; la PrPsc est détectée dans les tissus lymphoïdes avant de l'être dans le système nerveux central) et dans le processus de neurodégénérescence (expression accrue de certaines cytokines pendant le développement de la tremblante). Pour traiter le premier aspect, des groupes de moutons de génotypes PrP différents, soumis à la tremblante naturelle, ont été créés et sont autopsiés séquentiellement depuis fin 1998 pour suivre la localisation successive des dépôts de PrPsc. Ce projet fait l'objet d'un financement européen (projet CT976013 coordonné par L. Van Keulen, Pays-Bas). Pour le deuxième volet, il est prévu de comparer des lots de souris inoculées expé-

rimentalement par la tremblante et soumises ou non à des traitements immunosuppresseurs.

Connaissance des modes de transmission

Si certains génotypes au locus PrP sont un facteur de risque bien établi pour la tremblante, les modes de transmission de cette pathologie sont loin d'être tous élucidés. Des observations de terrain, complétées éventuellement par des expérimentations, peuvent contribuer à accumuler les connaissances sur le sujet.

L'épidémie de tremblante du troupeau de Langlade a notamment fait l'objet d'un suivi rapproché dès son origine, avec la contribution d'équipes de compétences diverses [3, 11, 12, 13, 14, 16, 17, 18]. Nous confirmons l'existence d'une transmission verticale ou pseudo-verticale (de la mère au nouveau-né), montrons que le parasitisme gastro-intestinal peut être un facteur de risque, et que les animaux de génotypes résistants ne sont probablement pas des porteurs sains. Pour tester les hypothèses que les nématodes (*Teladorsagia circumcincta*) puissent être un agent facilitateur de la maladie, voire même un de ses vecteurs, des expérimentations ont été mises en place [19, 11, 16, 18, 20], et un financement européen obtenu (contrat 987023 coordonné par Lucas Gruner).

L'épidémiologie de la tremblante ovine est abordée à plus grande échelle [21, 22] par des enquêtes sur des cas de tremblante repérés notamment à l'aide du réseau national d'épidémiologie-surveillance. L'objectif est de comprendre les circonstances d'apparition de la maladie dans un élevage, et les conditions de son maintien. Ces premières investigations montreraient que la transmission peut avoir lieu autrement que via les femelles parturientes (considérées dans la littérature comme la source première d'infection) et que des animaux peuvent être porteurs d'agents pathogènes sans symptômes. Pour compléter et enrichir ces observations, un suivi systématique de lots d'agnelles va être mis en place dans une vingtaine de troupeaux de statut varié (sain, atteint de tremblante sporadique, enzootique), ainsi qu'une étude rétrospective de type " cas témoin ".

Contrôler la tremblante

Le contrôle de la tremblante est un objectif appliqué majeur pour lequel l'INRA et les équipes qui lui sont associées doivent apporter leurs compétences.

Le diagnostic de la tremblante est basé sur des signes cliniques dont les principaux symptômes sont le prurit, l'ataxie, les tremblements et des modifications du comportement. Du fait de la variabilité d'expression de ces symptômes, il est nécessaire (au moins pour les premiers cas dans un élevage) de compléter ce diagnostic clinique par l'observation des lésions de l'encéphale. L'histologie conventionnelle des cas de tremblante est une préoccupation majeure des laboratoires de référence (dont le partenaire [16] à Toulouse, qui traite 80% des suspicions au niveau national). La réalisation [16] d'un atlas de neuro-anatomie du mouton, puis celle de profils de lésions standardisés sont une contribution à l'amélioration des techniques de diagnostic.

Il est très important de pouvoir détecter la maladie le plus tôt possible d'où la recherche de critères révélateurs de celle-ci avant qu'elle se manifeste. Les biopsies d'amygdales proposées par ID-DLO (institut hollandais de recherches agronomique) aux Pays-Bas permettraient de réaliser un diagnostic préclinique de la tremblante. Sur cette question importante, l'INRA [3,11] s'est engagé dans un projet européen (contrat 976013, coordonné par L. Van Keulen). Cependant, il n'existe pas à ce jour de technique non invasive. Partant de l'hypothèse que les ESST peuvent provoquer des altérations précoces du système nerveux central, nous [23, 11,16] recherchons un marqueur plasmatique ou urinaire d'une fonction endocrine qui serait perturbée par la tremblante avant même l'apparition des signes cliniques. Nous nous sommes orientés vers un marqueur de l'hypercorticisme (production élevée d'un métabolite du cortisol, le 20b-dihydrocortisol), qui a été observé chez les brebis atteintes de tremblante. Les observations montrent une altération des systèmes de rétrocontrôle hypothalamique et/ou hypophysaire ainsi qu'une hyperactivité des glandes surrénales à l'action de l'hormone ACTH. La spécificité et la sensibilité de ce test doivent

être appréciées. Le suivi sur le long terme d'un lot de moutons au domaine de Langlade nous permettra d'apprécier le caractère prédictif de ces mesures.

Dans le même ordre d'idée, un travail préliminaire a été réalisé [23] pour rechercher, au moyen de l'électrorétinographie, si des marqueurs électrophysiologiques d'une atteinte rétinienne existent chez la brebis à tremblante, avant apparition d'autres signes cliniques, l'hypothèse découlant du fait que la rétine peut être l'un des organes-cibles de la maladie.

La variabilité de la sensibilité à la tremblante associée au polymorphisme du gène PrP permet d'envisager une sélection pour la résistance à cette pathologie. Il convient toutefois de vérifier que les animaux qualifiés de génétiquement résistants ne sont pas sensibles à certains agents de tremblante (ou à celui de l'ESB), que ces animaux résistants ne sont pas des porteurs sains diffusant le prion, et que la sélection pour cette résistance n'induit pas une évolution défavorable des caractères de production classiques (production laitière, croissance ...) du fait de liaisons génétiques entre le locus PrP et des gènes contrôlant ces caractères. Ces questions sont abordées par les généticiens [11, 13, 5] en collaboration avec les organisations professionnelles [24, 25] et les pathologistes [3, 16]. Les observations mises en place à ce jour portent sur des études de cas témoins (basées sur la comparaison des fréquences des allèles du gène PrP chez les béliers d'insémination artificielle, représentatifs de l'ensemble de la population, et chez les animaux atteints de tremblante) ainsi que des actions de démonstration en ferme. En parallèle, nous avons entrepris une modélisation mathématique pour optimiser la sélection en faveur des allèles de résistance. Dans cette modélisation, nous essayons également de minimiser l'impact de cette sélection pour la résistance à la tremblante sur la sélection pour les caractères de production. Ce travail nous permettra, à moyen terme, d'apporter un conseil aux organismes de sélection.

La gestion de la crise de la vache folle est devenue un objet d'étude pour les sociologues et les politologues [26, 27, 28]. Son analyse devrait aider à comprendre ce qu'est une telle

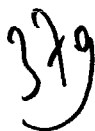
crise, comment elle peut apparaître, comment elle devrait être gérée, quels poids ont eu les réactions des politiques, des médias, des scientifiques... Une histoire séquentielle, par périodes-clés, a été entreprise afin d'apporter des éléments de réponse à ces questions [26]. Dans le même ordre d'idée, la gestion d'une situation d'incertitude, et notamment le fonctionnement des réseaux d'épidémiosurveillance est lui aussi un objet de recherche que l'INRA, en collaboration [27, 28], se doit d'étudier.

En conclusion

La mobilisation des équipes INRA sur les maladies à prions, en collaboration avec les laboratoires ou organismes apportant les compétences utiles sur le sujet, est considérable. Cet état des lieux est satisfaisant si on le compare à la situation de fin 1996. Cette évolution a été opérée dans sa presque totalité par des redéploiements d'activité, sans création de postes spécifiques. Les outils nécessaires se mettent en place, beaucoup de travaux sont en cours.

La nature même de ces pathologies dont le diagnostic est délicat lorsque l'on travaille en tremblante " naturelle ", ayant une durée d'incubation très longue, et exigeant des conditions de sécurité élevées lorsque les observations portent sur des animaux infectés expérimentalement par une ESST, explique largement que seuls des résultats préliminaires soient pour l'instant disponibles. Le maintien de financements européens et/ou nationaux à un niveau suffisant pendant plusieurs années est une condition incontournable pour l'obtention des résultats scientifiques attendus.

1. Unité INRA 892 de Virologie et Immunologie Moléculaires, CR Jouy-en-Josas
2. Laboratoire INRA 691 des Interactions des Molécules Alimentaires, CR de Nantes
3. Laboratoire INRA 918 de Pathologie Infectieuse et Immunologie, CR de Nouzilly
4. Unité associée INRA 806, Institut de Biologie Physico-chimique, Paris
5. Laboratoire INRA de Génétique Biochimique et Cytogénétique, CR de Jouy en Josas
6. Laboratoire associé 913 de Biologie Moléculaire et Cellulaire, ENS Lyon
7. CNEVA-Lyon
8. Unité associée INRA 995 de Génétique Moléculaire et Cellulaire, ENV Alfort
9. Service de Neurovirologie, CEA, Fontenay-aux-Roses
10. Unité associée INRA 956 d'Immunopathologie Cellulaire et Moléculaire, ENV Alfort
11. Station INRA 631 d'Amélioration Génétique des Animaux, CR Toulouse
12. Laboratoire INRA 444 de Génétique Cellulaire, CR Toulouse
13. GIE LABOGENA, CR Jouy-en-Josas
14. Laboratoire de Biologie Cellulaire, Faculté de Pharmacie, Paris
15. Laboratoire INRA 544 de Génétique des Poissons, CR Jouy-en-Josas
16. Laboratoire associé INRA 956 de Pathologie du Bétail, ENV Toulouse
17. Station INRA 337 de Génétique Quantitative et Appliquée, CR Jouy-en-Josas
18. Unité INRA 65 expérimentale de Langlade, Pompertuzat
19. Unité INRA 967 expérimentale du Magneraud, Surgères
20. Unité INRA 86 de Pathologie Aviaire et Parasitologie, CR Nouzilly
21. Unité INRA 346 d'Ecopathologie, CR Clermond-Ferrand-Theix
22. Unité associée INRA de Bio-informatique, ENV Lyon
23. Unité associée INRA 181 de Physiopathologie et Toxicologie expérimentales, ENVT
24. Institut de l'Elevage, pôle d'Auzeville
25. Association des Livres Généalogiques Ovins, MNE, Paris
26. Unité associée INRA-ENGREF 1003, ENGREF, Paris
27. Unité INRA 293 et CRIDE, Grenoble
28. Centre de Sociologie et de l'Innovation, Ecole des Mines et CRIDE, Paris
29. Laboratoire INRA 901 de Biologie Cellulaire et Moléculaire, CR Jouy-en-Josas
30. Laboratoire mixte INRA-CEA 314 de Radiobiologie Appliquée, CR Jouy-en-Josas



Le point des recherches de l'INRA sur les encéphalopathies animales, et en particulier la tremblante du mouton

80 chercheurs de l'INRA, représentant 20 équipes, engagés dans les recherches sur les encéphalopathies animales, en particulier la tremblante du mouton, se sont retrouvés les 7 et 8 septembre 2000. Ce deuxième séminaire a fait le point sur des actions financées par le comité national sur les des encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles et les prions, par la commission européenne et par l'Institut lui-même.

Des résultats scientifiques d'importance ont été générés dans les différents secteurs de recherches programmés :

- la production de protéine PrPc purifiée est opérationnelle (mais sera encore améliorée),
- des anticorps anti PrP ont été obtenus et sont d'ores et déjà largement utilisés pour détecter la protéine,
- des souris transgéniques présentant une durée d'incubation très courte ont été obtenues et pourraient devenir un outil de choix pour la caractérisation des différentes souches de tremblante,
- un système de culture cellulaire exprimant le gène *PrP* est fonctionnel et permettra d'accélérer grandement l'obtention des résultats scientifiques tout en limitant le recours aux expérimentations in vivo,
- un système ex vivo d'étude des propriétés de la protéine PrP devrait rapprocher les observations sur modèle des observations in vivo.

Les recherches portent aussi bien sur l'exploration de la biologie fondamentale de la tremblante et des prions, sur l'étude du développement de la maladie chez l'animal atteint de tremblante ou sur l'épidémiologie (recherche des facteurs de risques liés à l'environnement et des facteurs génétiques, modélisation des épidémies).

Des applications concrètes sont maintenant possibles. Ainsi, la sélection sur la résistance à la tremblante est devenue une réalité dans plusieurs races et devrait prendre un poids croissant dans l'avenir proche.

A l'issue de cette rencontre, la réflexion va se poursuivre sur les grandes orientations des travaux sur les ESST : l'INRA peut contribuer à traiter des questions très fondamentales comme les mécanismes et l'importance des barrières d'espèce, ou la réalité et l'origine de la variabilité entre souches de tremblante. L'INRA continue à travailler intensivement sur la mise au point de diagnostics pré-cliniques, sur les outils permettant de différencier la tremblante classique d'une éven-

tuelle ESB ovine, sur le caractère absolu de la résistance génétique de certains moutons à la tremblante, sur l'absence de portage sain chez ces animaux.

Il ressort de ce séminaire qu'une des spécificités des travaux menés à l'INRA sur les ESST est l'exploration et l'exploitation de la diversité génétique qui existe chez l'espèce ovine pour la sensibilité aux encéphalopathies. C'est à la fois un moyen d'action potentiellement très puissant pour limiter l'incidence de la maladie dans les élevages, et un outil d'investigation extraordinaire pour en comprendre les mécanismes et proposer des méthodes diagnostics, voire thérapeutiques originales.

Un dossier complet des résultats de recherche est disponible sur demande auprès du Service de Presse de l'INRA.

Sommaire du dossier

Détection de la protéine PrP

- * Purification de la PrP ovine normale (PrPc) et étude de sa distribution dans les différents tissus de l'animal
- * Panorama des anticorps monoclonaux obtenus par différentes stratégies pour la détection de la protéine PrP ovine

Variabilité de la sensibilité génétique des ovins à la tremblante

- * Variabilité de la sensibilité génétique à la tremblante dans différentes races ovines en France et en Europe
- * Etude de la sensibilité génétique des ovins à la tremblante
- * Etude des différents variants de la PrP normale (PrPc) et sensibilité à la tremblante

Caractérisation des souches d'ESST et étude du phénomène de barrière d'espèce

- * Identification de souches d'encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles : caractérisation d'isolats de tremblante et d'ESB
- * Développement de souris transgéniques exprimant la protéine PrP ovine normale (PrPc) comme modèle d'étude in vivo de la tremblante et autres ESST
- * Mise au point d'un système ex-vivo d'étude des ESST. Application à l'étude du phénomène de barrière d'espèce

Pathogénie et diagnostic de la tremblante

- * Accumulation précoce de la protéine PrP pathologique (PrPsc) dans les tissus lymphoïdes et nerveux du tube digestif d'agneaux atteints de tremblante naturelle
- * Perturbation neuroendocrinienne chez les brebis atteintes de tremblante : intérêt pour la mise au point de tests diagnostics sur l'animal vivant à partir du sang.