JUN - 3 1991

ISSN 0382-232X

Canada Diseases Weekly Report

Rapport hebdomadaire des maladies au Canada

Date of publication: 4 May 1991 Vol. 17-18 Date de publication: 4 mai 1991

Contained in this issue:

Workshop On Scrapie-Related Disease Control 89

Contenu du présent numéro:

Atelier sur la lutte contre les maladies apparentées à l'encéphalopathie spongiforme du mouton ("Scrapie") 89

WORKSHOP ON SCRAPIE-RELATED DISEASE CONTROL

"Mad cow disease" has become an eventful issue in Britain with the destruction of thousands of infected cattle and resulting public panic since it was first diagnosed in 1986. Bovine spongiform encephalopathy (BSE) is scrapie (long endemic in sheep) in cattle, transmitted via sheep-derived protein in cattle feed. Faced with this jump across a species barrier, the key issue raised from the human health point of view is: could this unconventional virus jump another species to man?

What follows is a summary of the proceedings of an international workshop on scrapie-related diseases, held because of the need to learn more about the transmissible encephalopathies, the possible relationship between scrapie (and BSE) and human health, and the actions which might be taken in dealing with the potential problem, particularly for the food and pharmaceutical industry. This workshop, held on 5 November, 1990, and sponsored by the Laboratory Centre for Disease Control, Ottawa, was chaired by Dr. D. Baxter, Director, Montreal Neurological Institute. The program included formal presentations by invited international experts, and workshops dealing with priorities for research/surveillance and specific actions required to protect human health in terms of food, drugs, and biologicals. Following these sessions, working group reports were presented and discussed at a brief plenary session.

Dr. M. Koller, Agriculture Canada, discussed scrapie in Canada. In sheep, scrapie has an incubation period of 3 to 6 years; once clinical signs have developed, the outcome is fatal. Transmission in nearly all cases is lateral, i.e., via the placenta and associated tissues and fluids, although it gives the appearance of being vertical, from dam to offspring. In goats, the disease is rare. Control and eradication is difficult at best. To keep the problem in perspective, there are only 700,000 sheep in Canada as compared to 11 million in the United States and 42 million in Britain.

Scrapie occurs almost exclusively in Suffolk sheep and Suffolk crosses, although other varieties such as Hampshire may be affected and rarely goat. It is a reportable disease which occurs in breeding flocks, commercial flocks and in imports during the 5-year quarantine. The first control program was launched in 1945, and until 1960, an average of one flock a year was diagnosed. Five versions of control programs (described as "putting out little fires") have been introduced

ATELIER SUR LA LUTTE CONTRE LES MALADIES APPARENTÉES À L'ENCÉPHALOPATHIE SPONGIFORME DU MOUTON ("SCRAPIE")

En Angleterre, la "maladie des vaches folles" est devenue une importante source de préoccupation depuis que, reconnue pour la première fois en 1986, elle a rendu nécessaire l'élimination de milliers d'animaux infectés et semé la panique au sein de la population. Cette encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) est une maladie endémique connue depuis longtemps chez le mouton, qui s'est transmise aux bovins par le biais de protéines d'origine ovine présentes dans les aliments pour le bétail. Étant donné ce saut d'une espèce à une autre, la question-clé qui se pose à l'heure actuelle est la suivante : ce virus "non conventionnel" peut-il se transmettre d'une espèce animale à l'homme?

On trouvera dans les pages suivantes le sommaire des actes d'un atelier international sur les maladies apparentées à l'encéphalopathie spongiforme du mouton (ESM), organisé dans le but de parfaire les connaissances sur les encéphalopathies transmissibles et de discuter de la relation possible entre l'ESM et ESB et la santé humaine ainsi que des mesures qui pourraient être prises pour résoudre certains problèmes potentiels intéressant, notamment dans les industries alimentaire et pharmaceutique. Cet atelier, tenu le 5 novembre 1990, était parrainé par le Laboratoire de lutte contre la maladie (Ottawa) et présidé par le Dr D. Baxter, directeur de l'Institut neurologique de Montréal. Le programme comprenait des conférences données par des experts internationaux et des ateliers portant sur les priorités en matière de recherche et de surveillance ainsi que les mesures à prendre pour protéger la santé humaine en veillant à l'innocuité des aliments, des médicaments et des produits biologiques. Au cours de la brève séance plénière qui a suivi, les groupes de travail ont présenté leurs rapports qui ont fait l'objet d'une discussion.

Le Dr M. Koller, d'Agriculture Canada, a parlé de l'ESM au Canada. Chez le mouton, la maladie est caractérisée par une période d'incubation de 3 à 6 ans et par une évolution vers la mort après l'apparition des signes cliniques. Dans presque tous les cas, la transmission de la maladie est latérale, c'est-à-dire qu'elle s'effectue par le placenta, les membranes et le liquide amniotique, et non verticale, de la brebis à l'agneau, comme on pourrait le croire à première vue. La chèvre est rarement atteinte de la maladie. Même dans les meilleures conditions, la lutte contre cette maladie et son éradication sont difficiles. Afin de bien situer le problème, il convient de noter qu'au Canada, le cheptel de moutons s'élève à seulement 700 000 têtes, comparativement à 11 millions aux États-Unis et 42 millions en Angleterre.

L'ESM frappe presque uniquement les moutons de race Suffolk et les moutons issus de croisements avec des sujets de cette race, mais elle touche à l'occasion d'autres races telles que la race Hampshire et, plus rarement, les chèvres. C'est une maladie à déclaration obligatoire qui frappe les troupeaux souches, les troupeaux commerciaux et les animaux d'importation durant la période de quarantaine de cinq ans. Le premier programme de lutte a été lancé en 1945 et, jusqu'en 1960, on a reconnu la maladie chez un troupeau par

Second Class Mail Registration No. 5670

Courrier de la deuxième classe - Enregistrement n° 5670

over the years, from removal of female bloodlines to flock depopulation with little effect. Affected flocks have ranged from 1 to 5; however, there were 9 infected flocks in 1989 and, as of 5 November, 6 in 1990. It has been many years since cases were reported from British Columbia, Alberta and the Atlantic Provinces but reporting is voluntary.

Dr. Koller concluded by indicating that BSE is an issue that has to do with survival of the sheep industry in Canada and the disposal of sheep offal. Agriculture Canada has consulted with livestock producers, packing houses, renderers and feed manufacturers with the objective of reducing contamination with the agent for the benefit of all sectors. The short-term approach is to certify offal on an ante-mortem clinical basis. The long-term approach is 2 fold: a flock certification program for preventive purposes and a revised scrapie control program that will be less punitive and increase reporting.

Dr. W.J. Hadlow, formerly with the National Institute of Allergy and Infectious Diseases, Rocky Mountain Laboratories, Montana, described the occurrence of scrapie in the United States. It is a relatively recent disease of sheep and goats introduced into the U.S. by Suffolk sheep imported from Britain and first described in 1947 in Michigan. In 1952 - 1953 it was diagnosed in several flocks of Suffolk sheep in California, Illinois and Ohio. Thereafter, until 1969, the number of infected flocks varied from 10 to 14 a year, but between 1969 and 1979, the number of outbreaks decreased to a low of 1 to 8, presumably in large part through the efforts of the Federal-State Cooperative Scrapie Eradication Program. During the last decade, the number of outbreaks has increased dramatically with 61 outbreaks in 1989 and 52 (as of 5 November) in 1990. Mortality has also increased dramatically, e.g., in one flock in Iowa, 50% of lambs born succumbed to the disease.

Epidemiological data clearly indicate that the disease has spread from flock-to-flock and from state-to-state by the movement of mostly young (1 to 2-year-old) preclinically infected sheep used by purebred breeders. Thus, there is a crucial need to identify preclinically infected sheep and for more information on virological events in extraneural tissues from which viruses shed to the outside world.

Probably the most critical change in the Eradication Program having a bearing on the increased prevalence of scrapie was made in 1983. Since then only female bloodlines have been considered when sheep are removed from an affected flock and the slaughter of entire flocks is no longer required. Although still in force, the Eradication Program is, in fact, "in limbo" because funding is no longer available to carry it out. Officials are now considering other ways to deal with it, one option being a voluntary certification scheme, mainly promoted by the sheep industry. Meanwhile, in the absence of a control program of any kind, outbreaks of scrapie are no doubt going unreported and unchecked.

BSE was first recognized in Britain in November 1986, according to Dr. J. Wilesmith, Central Veterinary Laboratory Weybridge, Surrey. An initial epidemiological study involving 200 affected herds supported the hypothesis that cattle had become exposed to a scrapie-like agent via cattle feed containing ruminant-derived protein in the form of meat and bone meal. As a result, legislation was introduced in July, 1988, to prohibit the inclusion of ruminant-derived protein in all ruminant rations to prevent further exposure of cattle to this source. Further investigation showed that exposure of both calves and adult cattle must have started suddenly in 1981/1982, the majority of animals having been exposed as calves, and the incubation period having a log normal distribution with a minimum period of 2.5 years. A survey of all rendering plants in production in 1988 showed that 2 changes had occurred in the rendering processes: a move from batch rendering to continuous processing and a considerable reduction in the use of hydrocarbon solvent extraction of fat from

année, en moyenne. Au fil des ans, on a appliqué 5 programmes différents de lutte (dont on a dit qu'ils n'étaient que des cataplasmes). Ces programmes, prévoyant tantôt l'élimination de lignées femelles, tantôt l'abattage intégral des troupeaux, n'ont pas donné les résultats escomptés. Le nombre moyen de troupeaux infectés, qui variait de 1 à 5 par année, passe à 9 en 1989 et, en date du 5 novembre, à 6 en 1990. Aucun cas n'a été rapporté depuis de nombreuses années en Colombie-Britannique, en Alberta et dans les provinces de l'Atlantique, mais la déclaration des cas n'est pas obligatoire.

En conclusion, le Dr Koller a indiqué que l'ESB est une question dont dépend la survie de l'industrie ovine au Canada. La question de l'élimination des déchets de mouton se pose. Agriculture Canada a consulté les éleveurs, les propriétaires d'abattoirs et d'ateliers d'équarrissage et les fabricants d'aliments pour le bétail sur les moyens de réduire les risques de contamination par l'agent pathogène, pour le bénéfice de tous les secteurs. L'approche à brève échéance consiste à garantir l'innocuité des déchets sur la foi d'un examen clinique *ante mortem*. L'approche à long terme comporte deux volets : un programme préventif de certification des troupeaux et un programme révisé de lutte contre l'ESM moins coercitif et favorisant davantage la déclaration des cas.

Le Dr W.J. Hadlow, qui travaillait autrefois au National Institute of Allergy and Infectious Diseases du National Mountain Laboratories (Montana) a parlé de l'apparition de l'ESM aux États-Unis. Cette maladie, qui touche les moutons et les chèvres, est apparue assez récemment aux États-Unis: on l'a reconnue pour la première fois au Michigan, en 1947, à la suite de l'importation de moutons de race Suffolk en provenance d'Angleterre. En 1952-1953, on a diagnostiqué la maladie dans plusieurs troupeaux de moutons de la même race en Californie, en Illinois et en Ohio. Le nombre de troupeaux infectés a oscillé entre 10 et 14 jusqu'en 1969; entre 1969 et 1979, le nombre d'épidémies a toutefois chuté, variant de 1 à 8, probablement en grande partie grâce aux mesures prises dans le cadre du programme conjoint d'éradication (Federal-State Cooperative Scrapie Eradication Program). Au cours des 10 dernières années, on a noté une augmentation spectaculaire du nombre d'épidémies (61 en 1989 et, en date du 5 novembre, 52 en 1990) et des taux de mortalité (pouvant atteindre 50 %, comme cela a été observé parmi les agneaux d'un troupeau en Iowa).

Les données épidémiologiques indiquent clairement que la maladie s'est propagée d'un troupeau à l'autre et d'un État à l'autre par suite de l'utilisation, par les éleveurs d'ovins de race, de moutons (principalement de jeunes sujets âgés de 1 à 2 ans) infectés mais ne présentant pas encore les signes cliniques de la maladie. Il est donc essentiel de reconnaître ces moutons infectés et de mieux comprendre les phénomènes qui surviennent dans les tissus extraneuraux à partir desquels les virus se propagent à l'extérieur.

C'est le changement apporté en 1983 au programme d'éradication qui a probablement le plus fait pour augmenter la fréquence de survenue de l'ESM. Depuis cette date, en cas d'infection d'un troupeau, on ne considère que l'élimination des lignées femelles, et non plus l'abattage intégral du troupeau. Bien qu'il soit encore en vigueur, dans les faits le programme d'éradication n'est plus appliqué, faute de fonds. Les fonctionnaires étudient actuellement d'autres solutions au problème, notamment un système de certification volontaire préconisé surtout par l'industrie ovine. Entre temps, en l'absence de tout programme de lutte, il est certain que des épidémies d'ESM ne sont pas déclarées et échappent à tout contrôle.

D'après le Dr J. Wilesmith, du Central Veterinary Laboratory, de Weybridge (Surrey), en Angleterre, les premiers cas d'ESM ont été recensés en novembre 1986. Une première enquête épidémiologique portant sur 200 troupeaux touchés a confirmé l'hypothèse selon laquelle le bétail avait été exposé à un agent infectieux qui s'apparente à celui de l'ESM par le biais de farines de viande et d'os qui contenaient des protéines issues de ruminants. Par suite de cette découverte, on adoptait en juillet 1988 une loi interdisant l'inclusion de telles protéines dans les aliments pour le bétail. En poursuivant l'enquête, on a trouvé des raisons de croire que l'exposition des veaux et des animaux adultes était survenue de façon subite en 1981-1982; la plupart des animaux auraient été exposés alors qu'ils étaient encore des veaux. La période d'incubation suit une distribution logarithmique normale, la période minimale est de 2,5 ans. Une enquête menée auprès de tous les ateliers d'équarissage en activité en 1988 a révélé que 2 changements avaient été apportés au procédé de récupération : passage d'un procédé discontinu à un procédé continu, et réduction considérable de l'utilisation de solvants hydrocarbonés pour

meat and bone meal. The reduction in use of hydrocarbon solvent extraction was coincident with the estimated time that exposure to cattle changed and is currently considered to be the single most important factor for the appearance of BSE in Britain.

Another notable event has been the occurrence of cases of spongiform encephalopathy in 5 species of exotic ungulates in zoological collections in Britain. This occurrence was consistent with exposure to meat and bone meal in their diets.

In conclusion, BSE is a new disease in Britain which has appeared as an extended common source epidemic, with almost 20,000 cases reported to date. The within-herd incidence is low and the risk of a herd being infected increases with adult herd size. There is no predisposition to the development of the disease with breed, sex, stage of pregnancy/lactation or season, nor with the use of vaccines, pharmaceutical products or agricultural chemicals.

A review of BSE transmission studies in animals was made by Dr. M. Bruce, Neuropathogenesis Unit, Edinburgh. The most obvious initial purpose was simply to confirm that BSE is a transmissible scrapie-like disease. Once this was established, an urgent priority was to develop *in vitro* assay systems in laboratory animals to test for infection in cattle tissues, particularly those used for food or pharmaceuticals. Other important aims were to assess the risk of infection to other species and to investigate the relationship between the strains of agent causing BSE and sheep scrapie.

Transmission has been achieved to cattle and pigs using combinations of intracranial (i.c.), intravenous (i.v.), and intraperitoneal (i.p.) routes. Transmission experiments to chickens by simultaneous i.c. and i.p. injection and by oral dosing, and to pigs by feeding are in progress, but so far have been negative. BSE has been successfully transmitted to mice by the i.c. and i.p. routes, and to sheep and goats by the i.c. route. Attempts to transmit to sheep and goats by oral dosing have been negative to date. At the Royal Veterinary College, London, BSE has been transmitted to mice by feeding.

Ten percent brain homogenates from 4 individual Holstein Friesians from widely scattered geographical locations in the U.K. were injected into cattle (Holstein Friesians and Jerseys) simultaneously by the i.c. and i.v. routes. Each source was injected into a group of 4 cattle and was 100% successful for all 4 sources. The incubation period between injection and disease was remarkably uniform (550 - 600 days) between sources and between individuals. The BSE strains appeared to be quite different from naturally derived scrapie isolates (mostly from the 1970s).

Four strains of mice (2 with the s7 allele of the Sinc gene and 2 with the p7 allele of Sinc) were inoculated by the i.c. and i.p. routes with 10% brain homogenates from the same source material. All 4 BSE sources transmitted easily to mice with 100% success rates and mean incubation periods of 300 to 600 days. As with cattle transmission, results were remarkably similar, suggesting uniformity between BSE cattle sources. In one strain of mice (RIII), incubation periods were about 100 days shorter than in C57BL mice, both of which carry the s7 allele of Sinc, suggesting that other genes may influence the incubation period. In further passaging in mice, the incubation periods in the mouse strains were in each case considerably shorter. The incubation period of VM-passaged BSE in VM mice is shorter by almost 80 days than previously characterised scrapie strains, very likely indicating selection of a new strain.

The striking uniformity between BSE sources on transmission to cattle and mice suggests that all cattle may be infected with the same major strain of agent. The strains of agent isolated in mice differ from those previously derived from sheep scrapie (obtained from cases occurring more than 20 years ago). There is a great deal of experimental evidence that scrapie strains can mutate and that

l'extraction des graisses des farines de viande et d'os. Le moment où l'on estime que l'exposition accrue du bétail est survenue coincide avec celui où l'on a décidé de réduire l'utilisation de solvants hydrocarbonés à des fins de dégraissage; on considère actuellement qu'il s'agit là du principal facteur qui a contribué à l'apparition de l'ESB en Angleterre.

Il convient également de noter que des cas d'encéphalopathie spongiforme ont également été observés chez 5 espèces exotiques d'ongulés vivant dans des zoos en Grande-Bretagne. Ici encore, la maladie est survenue chez des animaux consommant des farines de viande et d'os.

En conclusion, l'ESB est une maladie d'apparition récente en Angleterre. Elle a pris la forme d'une vaste épidémie de source commune, près de 20 000 cas ayant été déclarés à ce jour. Le taux de présence de la maladie au sein des troupeaux est faible, le risque d'infection d'un troupeau augmente en fonction du nombre d'adultes dans le troupeau. Il n'existe pas de corrélation entre l'apparition de la maladie et la race, le sexe, le stade de la grossesse ou de l'allaitement, la saison, l'utilisation de vaccins, de produits pharmaceutiques ou de produits chimiques agricoles.

Le Dr M. Bruce, de la Neuropathogenesis Unit, à Édimbourg, a passé en revue les études réalisées sur la transmission de l'ESB chez les animaux. Le but premier le plus évident de cette démarche était simplement de confirmer que l'ESB est une maladie transmissible apparentée à l'ESM. Une fois cette hypothèse vérifiée, il devenait urgent de mettre au point des techniques de dosage *in vitro* sur des animaux de laboratoire afin d'être en mesure de déceler l'infection dans les tissus du bétail, en particulier des animaux utilisés pour l'alimentation ou la fabrication de médicaments. Les autres objectifs importants étaient d'évaluer les risques de contamination d'autres espèces animales et d'étudier la relation entre la souche de l'agent causant l'ESB et celle de l'agent de la l'ESM.

La transmission de la maladie aux bovins et au porc a été réalisée par diverses combinaisons des voies intracrâniennes (i.c.), intraveineuse (i.v.) et intrapéritonéale (i.p.). On mène actuellement des expériences visant à transmettre la maladie au poulet par injections i.c. et i.p. réalisées de façon simultanée et *per os*, et au porc *per os*. Toutefois, les résultats demeurent négatifs à ce jour. On a réussi à transmettre l'ESB à la souris par voies i.c. et i.p., et au mouton et à la chèvre par voie i.c. Les tentatives de transmission de la maladie au mouton et à la chèvre par doses buccales demeurent vaines pour l'instant. Au Royal Veterinary College de Londres, on est parvenu à transmettre l'ESB à la souris par voie alimentaire.

Des homogénats de cervelle à 10 %, obtenus de 4 individus de race Holstein frisienne provenant de diverses régions du Royaume-Uni, ont été injectés à des vaches (de races Holstein frisienne et Jersey) par voies i.c. et i.v. simultanément. Chacune des sources a été injectée à un groupe de 4 vaches et, dans chaque cas, le taux de transmission a été de 100 %. La période d'incubation est étonnamment uniforme (550-600 jours), tant pour les sources que pour les sujets. Les souches provoquant l'ESB semblent passablement différentes des isolats d'ESM obtenus de sources naturelles (en majeure partie au cours des années 1970).

Des homogénats de cervelle à 10 % issus des mêmes sources ont été inoculés par voies i.c. et i.p. à 4 souches de souris (2 présentant l'allèle s7 et 2, l'allèle p7 du gène Sinc). La transmission des 4 sources d'ESB aux souris se réalise à 100 %; la période moyenne d'incubation varie de 300 à 600 jours. Comme dans le cas du bétail, les résultats sont étonnamment homogènes, ce qui laisse croire à l'uniformité des diverses sources d'ESB d'origine bovine. Dans le cas d'une souche de souris (RIII), les périodes d'incubation sont plus courtes d'environ 100 jours que celles observées chez les souris C57BL. Étant donné que ces 2 souches présentent l'allèle s7 du gène Sinc, on suppose que d'autres gènes pourraient influer sur la période d'incubation. Au cours de passages ultérieurs chez des souris, on a observé dans chaque cas un raccourcissement considérable des périodes d'incubation. La période d'incubation de l'ESB transmis à des souris VM par des souris VM est plus courte d'environ 80 jours que dans le cas des souches d'ESM déjà caractérisées, ce qui indique fort vraisemblablement la sélection d'une nouvelle souche.

Étant donné la très grande uniformité observée entre les sources d'ESB pour ce qui est de la transmission au bétail et à la souris, on croit que tout le bétail pourrait être infecté par la même souche. Les souches isolées chez les souris diffèrent de celles obtenues précédemment d'animaux atteints d'ESM (il y a plus de 20 ans). On dispose d'un grand nombre de preuves expérimentales indiquant que des mutations peuvent se produire dans les

one of the ways of selecting variants is to change the species used for passage. It is quite possible that passage through cattle could select variants of a sheep-derived strain in this way.

Dr. R. Kimberlin, Scrapie-Related Disease Service, Edinburgh, discussed BSE and its possible public health implications. Because it belongs to the scrapie family on which there is much background information, many potential problems have been anticipated. Scrapie is the only unconventional virus that exists as an endemic infection of its natural host (sheep). Transmissible mink-encephalopathy (TME) appears to have been a precedent for BSE, being an earlier example of a scrapie-like infection getting into a population exposed through feed which ended up as a dead-end infection. Kuru, the origins of which are unknown, could well have been an original isolated spontaneous case of Creutzfeldt-Jakob disease (CJD) passaged through a susceptible human population by the practice of cannibalism. CJD itself gives a baseline measurement against which the possible risks to public health from BSE can be measured.

As a general statement, there is no mystery about the acquisition of these diseases - it is simply a matter of the effective dose which is a composite of 3 variables: the route of exposure, the amount of infectivity, and the species barrier. The absence of a relationship between CJD and scrapie is not because man has not been exposed, merely that the effective dose has not been high enough. It follows that BSE will be of no public health consequence whatsoever, unless there are features which differentiate it from scrapie. There are 2 possible aspects to consider: 1) whether exposure to BSE is higher considering the higher consumption of bovine than ovine products, and 2) whether the scrapie strain in cattle is transmissible to man (i.e., the species barrier). This dilemma led to the specified offals ban in the U.K. which was a preemptive strategy to ensure that exposure of man to infective tissues via the food chain (brain, spinal cord and lymphoreticular tissues such as spleen, tonsils, lymph nodes) would be minimized. The risk will not come from meat or milk, the most commonly consumed foods which are non-infective.

There are 2 options in dealing with pharmaceutical resource materials that may be infected. First, the usual methods of destroying the agent may also destroy biological activity so this option is not available as a general rule. Removal of the agent by centrifugation, filtration and column chromatography is also a possibility, although there is always a very small possibility of procedural error. The problem has been solved by avoiding high risk tissues and sources, e.g., sourcing in Australia and New Zealand, parts of the world with the lowest risk because of the known absence of scrapie.

The recent epidemic of BSE in cattle has rekindled the smouldering debate about a zoonotic origin for at least some cases of the analogous human illness CJD, and has also called into question the adequacy of diagnostic criteria for cases that might result from bovine to human transmission according to Dr. P. Brown, National Institute of Neurological Diseases and Stroke, Bethesda, Maryland.

For the usual case of sporadic or familial CJD there are very secure diagnostic criteria. Typically, CJD presents as a subacute progressive mental deterioration in persons age 55-75 years accompanied or followed by cerebellar or visual signs and a subsequent course that includes myoclonus, pyramidal and extra-pyramidal signs and an EEG pattern of periodic 1-2 cycle per second triphasic complexes. Neuropathological examination or identification of the pathognomonic scrapie amyloid protein in brain tissue extracts will establish the diagnosis. For the iatrogenic cases in which infection occurred by a peripheral route of inoculation from contaminated pituitary growth hormone therapy, the disease shows 2 important differences. First, the incubation period increases from about 2 years to between 10 and 20 years and

souches de virus de l'ESM et qu'une des façons de choisir les variants consiste à changer les espèces utilisées pour les passages. Le passage au bétail pourrait donc ainsi mener à la sélection de variants d'une souche d'origine ovine.

Le Dr R. Kimberlin, du Scrapie-Related Disease Service, à Édimbourg, a présenté un exposé sur l'ESB et sur les conséquences possibles de cette maladie sur la santé publique. Le fait que l'ESB appartienne à la même famille que l'ESM, sur laquelle nous disposons d'un grand nombre de données, nous a permis de prévoir de nombreux problèmes éventuels. La maladie du mouton est causée par le seul virus "non conventionnel" qui se manifeste sous forme d'une infection endémique de son hôte naturel. L'encéphalopathie transmissible du vison (ETV) semble constituer un précédent pour l'ESB, en ce sens qu'elle est apparue comme une infection sans issue frappant une population exposée de par son régime alimentaire à un agent semblable à celui de l'ESM. Le kuru, maladie dont l'origine demeure inconnue, pourrait bien avoir été un exemple spontané et isolé de transmission de la maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ) à une population humaine rendue réceptive par la pratique du cannibalisme. La MCJ elle-même constitue un point de repère qui permet d'évaluer les risques potentiels de l'ESB pour la santé publique.

De façon générale, la propagation de ces maladies n'a rien de mystérieux : il suffit d'avoir une dose efficace, facteur qui est lui-même fonction de 3 variables : la voie d'exposition, le pouvoir infectieux et la barrière de transmissibilité interspécifique. L'absence de relation entre la MCJ et l'ESM ne tient pas à ce que les populations humaines n'auraient pas été exposées, mais uniquement à ce que la dose efficace n'a pas été atteinte. L'ESB ne constitue donc d'aucune façon une menace pour la santé publique, à moins qu'elle ne présente certaines caractéristiques particulières qui la différencient de l'ESM. Il faut considérer 2 aspects possibles : 1) l'exposition à l'ESB est-elle plus forte parce que la consommation de viande de bovins est supérieure à la consommation de viande de moutons? 2) l'infection qui frappe le bétail est-elle transmissible à l'homme (en d'autres mots, la maladie peut-elle franchir la barrière interspécifique)? Devant ce dilemme, le Royaume-Uni a décidé d'interdire la consommation de certains abats, stratégie préventive qui visait à réduire au minimum l'exposition alimentaire des populations humaines aux tissus infectants (cervelle, moelle épinière, tissus lymphatiques et réticulo-endothéliaux tels que la rate, les amygdales et les ganglions lymphatiques). Ce risque n'existe pas avec la viande ou le lait qui sont les aliments d'origine bovine les plus consommés.

Deux solutions peuvent être envisagées en ce qui a trait à la possibilité d'infection des matières premières qui entrent dans la fabrication des produits pharmaceutiques. Il convient de noter, dans un premier temps, que les méthodes habituelles utilisées pour détruire l'agent pathogène peuvent également provoquer la destruction de l'activité biologique. C'est pourquoi cette solution est rejetée dans la plupart des cas. L'élimination de l'agent pathogène par centrifugation, filtration ou chromatographie sur colonne est aussi à considérer, même si ces procédés comportent toujours un très faible risque d'erreur. On a résolu le problème en évitant d'utiliser les tissus et les sources qui présentent un risque élevé, par exemple, de s'approvisionner en Australie et en Nouvelle-Zélande, régions du monde où les risques sont les moins élevés puisque l'ESM n'y a jamais été observée.

Selon le Dr P. Brown, du National Institute of Neurological Diseases and Stroke, Bethesda (Maryland), l'épidémie récente d'ESB frappant le bétail a ranimé le débat concernant l'origine zoonotique d'au moins certains cas de la MCJ, affection analogue observée chez l'homme, et entraîné une remise en question des critères de diagnostic employés dans les cas pouvant résulter d'une transmission des bovins à l'homme.

Pour les cas habituels de MCJ sporadique ou familiale, les critères de diagnostic sont très fiables. Normalement, la MCJ apparaît entre 55 et 75 ans et se caractérise par une détérioration mentale subaiguë progressive accompagnée ou suivie de syndrome cérebelleux ou de troubles visuels. Les sujets atteints manifesteront ensuite des myoclonies, des signes pyramidaux et extra-pyramidaux, un tableau EEG constitué de complexes triphasiques à 1-2 Hz. L'examen neuropathologique ou la démonstration de la protéine amyloïde pathognomonique de l'ESM dans les extraits de tissu cérébral permet de poser le diagnostic. Dans les cas iatrogènes, où l'infection a résulté d'injections périphériques à des fins thérapeutiques d'hormones de croissance hypophysaires contaminées, on observe 2 différences importantes. Premièrement, la période d'incubation s'allonge considérablement; au lieu d'être d'environ 2 ans, elle se situe entre 10 et 20

second, progressive dementia is almost entirely replaced by a cerebellar syndrome that usually starts with a gait disturbance and little dementia until late in the illness. This form of iatrogenic CJD bears a striking resemblance to Kuru that is acquired by one or more peripheral routes of inoculation with incubation periods up to 30 years.

The global epidemiology of CJD is that of a randomly dispersed disease with an annual overall incidence of 1 case per 2 million people being consistently higher in urban than rural areas. Only in Czechoslovakia and Israel have convincing case clusters been identified among inhabitants of 2 rural areas in Slovakia, and in Libyan-born Jews. Recent molecular genetic study of these groups has revealed an identical mutation in the scrapie amyloid precursor gene on chromosome 20. Whether this mutation initiates the disease or acts as a susceptibility factor to environmentally-acquired infection (such as scrapie) remains to be determined.

Whether scrapie, and by extension BSE, could account for any cases of CJD is a difficult issue to resolve. No significantly elevated risk of CJD has been observed in occupational groups in frequent contact with sheep or sheep products such as sheep breeders, shepherds, butchers, slaughterhouse workers, employees of rendering and animal feed plants, or with researchers working with scrapie, etc. CJD also appears at its usual frequency in Australia and New Zealand, countries free of scrapie. The strongest evidence in favour of contact infection is from the aforementioned clusters, which have all occurred in rural sheep-raising areas. In spite of all the negative evidence, the possibility cannot be totally dismissed that occasional exposure to a minimal infectious dose of scrapie could result in a rare case of CJD.

From the standpoint of human health, Dr. Brown indicated that manufactured products appear to pose no health hazard. The small but finite risk of residual infectivity in biologicals derived from bovine blood or tissues have to be weighed against the benefits of their continued use. With respect to human nutrition, the commercially important meat and milk products contain no detectable infectivity, but it would be preferable that the scrapie agent and BSE not be in the human food chain even as a rare contamination of brain, blood, sausage or tripe.

Dr. C. Gajdusek, National Institute of Neurological Diseases and Stroke, Bethesda, described vividly his involvement in studies of Kuru in New Guinea and of a CJD-like disease in Czechoslovakia. He started by pointing out that, if one inoculated the scrapie-like agent from a wide variety of sources into the 5 species of monkey, they develop a CJD-like disease which cannot be distinguished by any technique from the disease in monkeys infected with CJD from a human source. The precursor protein associated with infectivity in these monkeys, if fully molecularly sequenced, is the same whatever the source. He emphasized the importance of the route of infection in transmission studies, the oral route being a hundred thousand times less infectious than the i.c. route. Some species such as the squirrel monkey are extremely susceptible and easily infected but no known biochemical or molecular biological technique enables one to predict whether an animal agent (such as BSE) will take in man. Time will tell.

Dr. Gajdusek continued by discussing Kuru in the Highlands of New Guinea. This disease could not be explained by zoonotic transmission since it was known long before the missionaries arrived and brought mammals to the country. There is no doubt that it was related to the practice of cannibalism and the method of butchering and handling tissues whereby the skin was subsequently anointed with the greasy brain material left on the hands. Skin lesions smeared with infectious material were obvious sources of infection. Kuru became the primary cause of death with an incidence in epidemic proportions ranging from 20,000-50,000 per million population. Infection occurred early in life but transmission

ans. Deuxièmement, la démence progressive est presque complètement remplacée par un syndrome cérébelleux qui produit habituellement, au stade initial, des troubles de la démarche, la démence étant peu apparente jusqu'à la phase tardive de la maladie. Cette forme iatrogène de la MCJ présente des similarités frappantes avec le kuru, affection transmise par au moins une voie périphérique d'inoculation et caractérisée par une période d'incubation qui atteint parfois 30 ans.

Selon les données épidémiologiques recueillies à l'échelle mondiale, la MCJ se présente comme une affection à répartition aléatoire dont la fréquence annuelles globale de survenue s'établit à un cas par 2 millions d'habitants et est toujours plus élevée en régions urbaines qu'en régions rurales. Les seuls exemples probants de concentration régionale ont été observés en Tchécoslovaquie, parmi les habitants de 2 régions rurales de Slovaquie, et en Israël, chez des Juifs d'origine libyenne. Une étude récente en génétique moléculaire réalisée auprès de ces groupes a permis de mettre en évidence une mutation identique dans le gène du précurseur de l'amyloïde de l'ESM situé sur le chromosome 20. On n'a pas encore établi si cette mutation déclenche elle-même l'apparition de la maladie ou si elle agit plutôt comme un facteur prédisposant à la contagion.

L'existence d'un rapport entre l'ESM et, par extension, l'ESB, et la MCJ est difficile à démontrer. On n'a observé aucune augmentation significative du risque de MCJ chez les groupes de travailleurs fréquemment en contact avec des moutons ou des produits d'origine ovine, par exemple les éleveurs, les bergers, les bouchers, les employés d'abattoirs, d'ateliers d'équarissage et d'usines de fabrication d'aliments pour le bétail ou les chercheurs qui effectuent des études sur l'encéphalopathie spongiforme. En outre, en Australie et en Nouvelle-Zélande où l'ESM ne sévit pas, la fréquence de la MCJ semble être la même qu'ailleurs. L'argument le plus troublant en faveur d'un lien entre l'infection par le virus de l'ESM et la survenue de MCJ repose sur les foyers susmentionnés de cette dernière maladie, tous situés en des régions rurales à vocation pastorale où l'on élève des moutons. En dépit de toutes les preuves rassemblées, il est impossible d'affirmer avec certitude qu'une exposition à une dose minimale du virus de l'ESM ne peut entraîner, dans de rares cas, l'apparition de la MCJ.

Selon le Dr Brown, les produits manufacturés ne semblent pas présenter de risque pour la santé humaine. Le faible risque d'infectivité résiduelle des produits biologiques obtenus à partir de sang ou de tissus d'origine bovine doit être pesé en regard des avantages de leur utilisation. En ce qui concerne l'alimentation humaine, les viandes et les produits laitiers d'importance commerciale ne présentent pas de risque détectable d'infection. Il paraît toutefois préférable de veiller à ce que l'agent de l'ESM et de l'ESB ne se trouve pas dans les produits consommés par l'homme, pas même comme un contaminant rare de la cervelle, du boudin, des saucisses ou des tripes.

Le Dr C. Gajdusek, du National Institute of Neurological Diseases and Stroke, à Bethesda, a décrit de manière vivante le rôle qu'il a joué dans l'étude du kuru en Nouvelle-Guinée et d'une maladie apparentée à la MCJ en Tchécoslovaquie. Il a d'abord signalé que lorsqu'on inocule à cinq espèces de singes un virus de l'ESM obtenu d'un grand nombre de sources, on provoque chez eux l'apparition d'une affection semblable à la MCJ qui, indépendamment de la technique utilisée, ne peut être distinguée de l'affection qui touche les singes infectés par l'agent de la MCJ provenant d'une source humaine. Un séquençage moléculaire complet révèle que la protéine précurseur reliée à l'infectivité chez ces singes est la même dans tous les cas, quelle que soit sa source. Il a rappelé à quel point il est important de considérer les voies d'infection dans les études sur la transmission; ainsi, la voie buccale est cent mille fois moins efficace que la voie intracrânienne. Chez certaines espèces extrêmement vulnérables, comme le singe-écureuil, l'infection se produit très facilement. À l'heure actuelle, il n'existe toutefois pas de technique de biochimie ou de biologie moléculaire qui permette de prévoir si un agent pathogène pour l'animal (tel que l'agent de l'ESB) pourra se transmettre à l'homme. Seul le temps le dira.

Le Dr Gajdusek a ensuite parlé du kuru, maladie qui touchait une peuplade vivant dans les hauts plateaux de la Nouvelle-Guinée. La maladie ne pouvait pas être classée parmi les zoonoses, car elle sévissait bien avant l'arrivée des missionnaires et des mammifères qu'ils amenèrent. Il est clair que la transmission du kuru découlait des pratiques de cannibalisme et de la façon de dépecer et de manipuler les tissus des cadavres. Les manipulateurs s'enduisaient en effet le corps du dépôt graisseux laissé sur leurs mains par la matière cérébrale. De toute évidence, l'agent pathogène présent dans le matériel infecté pouvait pénétrer dans l'organisme par les lésions cutanées. Le kuru était devenu la principale cause de mortalité, son taux de survenue atteignant des proportions épidémiques de l'ordre de 20 000 à 50 000 cas

ceased with the disappearance of cannibalism, sparing children in the subsequent decade and adolescents in the second decade. It was catastrophic in women, being responsible for 90% of all deaths during 25 years of observation. There are more than a thousand children who were born to Kuru mothers while they had the disease and breast fed them but who never got Kuru, so the disease is not transmitted transplacentally or perinatally. With the disappearance of cannibalism, it is a dead-end infection which is now on the verge of extinction.

Klusavka, a Slovak word for scrapie, is a disease of Slovak lore several centuries old. In rural sheep-raising areas of Slovakia, CJD incidence is about 500 or more times greater than the rest of the world (with the exception of Sephardic Jews), with an incidence of 2,000 per million in some locales. A dozen villages with a population of less than 15,000 account for most of the cases. It appears to be a new occurrence with sporadic and familial cases, in the form of a temporal outbreak which was not present in the 50s, 60s and 70s. Whether the outbreak is related in some way to sheep scrapie (the "environmental factor") remains an open question.

Dr. Gajdusek then went on to discuss families with large genealogies which have been described in a number of European countries which get CJD as a Mendelian autosomal dominant trait over several generations affecting exactly 50% of siblings. In all other cases of genetic autosomal recessive or dominant controlled infection, the susceptibility gene demands, in order to get a 50% ratio, 100% dissemination of the agent. In the Slovak Orava investigation, 14 CJD families have now been described with a point mutation, glutamic acid being replaced by lysine in the codon 200 position in CJD cases (and 50% of their first-order relatives). However, it is obvious that a genetic explanation cannot completely account for the outbreak.

In all species infected with scrapie-like disease, brain amyloidosis is a prominent feature with fibrils in the extracellular space which can be extracted. Like all amyloid it comes from a normal host precursor protein or a sub-unit polypeptide thereof found in all individuals. There are over 50 known amyloid precursors in man and animals. Insulin itself is a precursor and can change into an insoluble beta-pleated sheet configuration which makes amyloid.

The paradigm for CJD is familial amyloidotic polyneuropathy (FAP). All persons carry certain prealbumins called transthyretin whose function is to carry thyroid intermediate hormones. Normally this is not converted into amyloid. However, if the purified protein is concentrated and demineralized, it is converted into amyloid on a slide *in vitro*. Of 29 known families with FAP, 17 point mutations have now been found in each of which amyloidosis occurs as a spontaneous stochastic event.

Likewise in familial CJD, point mutations occur, but interestingly, when infectious amyloid from a human case is injected into another species, the infectious protein formed does not carry the point mutation. It is not a DNA/RNA system of copying a point mutation. We are dealing with crystallography and nucleation which configurationally alters the host protein exactly as the mutations do, producing a different crystal structure with the same molecules, somewhat like water changing into ice, snow or frost. Whether we are dealing with infectious proteins with no DNA or RNA remains a matter of conjecture to many. Gajdusek is convinced there is no DNA or RNA in the infectious unit. Gajdusek is willing to use the term "unconventional viruses" for infectious proteins with no DNA or RNA where the infectivity is conferred by nucleation or induction on the host precursor post-translationally, without change in the amino acid sequence of the host precursor. It is a configurational change that may involve creation of a coordinate covalent or covalent chemical bond within the precursor molecule and not a biosynthetic transcriptional event.

The final paper, on potential problems for the pharmaceutical industry, was delivered by Dr. J. Ayres, Wellcome Foundation (U.K.). Materials of animal origin are used extensively in the manufacture of pharmaceuticals, classical biologicals (such as vaccines and antisera) and extend into the new areas of

par million d'habitants. L'infection survenait au cours des premières années de la vie, mais la transmission cessant avec l'arrêt de la pratique du cannibalisme, les enfants furent épargnés au cours de la première décennie et les adolescents au cours de la décennie suivante. Chez les femmes, la situation était catastrophique, la maladie étant à l'origine de 90 % de tous les décès au cours des 25 années d'observation. Plus d'un millier d'enfants, nés de femmes atteintes du kuru et allaités par celles-ci, n'ont jamais contracté la maladie. La transmission n'est donc pas périnatale ou transplacentaire. Avec la disparition du cannibalisme, le kuru est devenu une infection sans issue presque complètement disparue de nos jours.

Klusavka, terme slovaque pour l'ESM, désigne une maladie qui sévit en Slovaquie depuis plusieurs siècles. Dans les régions rurales à vocation pastorale, le taux de survenue de MCJ est au moins 500 fois plus élevé que dans le reste du monde (sauf chez les juifs séfarades) et atteint 2 000 cas par million d'habitants dans certaines localités. La majorité des cas proviennent d'une douzaine de villages comptant en tout moins de 15 000 habitants. La maladie semble d'apparition récente, avec des cas sporadiques et familiaux, et se manifeste sous la forme d'une poussée épidémique non observée au cours des années 1950, 1960 et 1970. La correspondance entre cette épidémie et l'ESM (le "facteur environnemental") demeure à établir.

Le Dr Gajdusek a ensuite parlé de familles ayant une descendance importante et vivant dans divers pays européens chez qui la MCJ est transmise sur le mode autosomique dominant : elle frappe exactement 50 % des descendants sur plusieurs générations. Dans tous les autres cas d'infections héréditaires dépendant d'un caractère autosomique dominant, on ne peut obtenir ce rapport de 50 % que si l'agent est disséminé à tous les sujets. Dans la région de l'Orava, en Slovaquie, on a trouvé chez 14 familles atteintes de MCJ une mutation ponctuelle qui se traduit, chez les cas de MCJ (et 50 % des parents et germains), par le remplacement de l'acide glutamique par la lysine sur le codon 200. De toute évidence, ce phénomène génétique n'explique toutefois pas entièrement l'origine d'une telle épidémie.

Chez toutes les espèces atteintes d'une affection évoquant l'ESM, on observe une amyloïdose cérébrale marquée et des fibrilles extractibles dans l'espace extracellulaire. Comme tous les amyloïdes, celui qui est en cause ici provient d'une protéine précurseur normale de l'hôte ou d'une sous-unité polypeptidique de celle-ci présente chez tous les sujets. On a décrit plus de 50 précurseurs d'amyloïde chez l'homme et chez l'animal. L'insuline, qui est elle-même un précurseur, peut adopter une structure insoluble à feuillets plissés bêta produisant de l'amyloïde.

La MCJ suit le modèle de la neuropathie amyloïde familiale (NAF). Tout être humain possède certaines préalbumines, les transthyrétines, dont le rôle est de transporter les hormones thyroïdiennes intermédiaires. En temps normal, la conversion en amyloïde ne se produit pas. Toutefois, lorsque la protéine purifiée est concentrée et déminéralisée, elle se convertit en amyloïde sur lamelle. À ce jour, dans les 29 familles reconnues atteintes de NAF, on a décrit 17 mutations ponctuelles qui se traduisent toutes par une amyloïdose spontanée survenant de façon stochastique.

De la même façon, dans les cas familiaux de MCJ, on observe des mutations ponctuelles, mais, phénomène intéressant, quand on injecte une substance amyloïde infectieuse d'origine humaine à une autre espèce animale, la protéine infectieuse qui se forme ne porte pas de mutation ponctuelle. Il ne s'agit donc pas d'un système séquenceur d'ADN/ARN permettant la réplication d'une mutation ponctuelle, mais plutôt d'un processus de cristallisation et de nucléation qui altère la configuration de la protéine de l'hôte, exactement comme le ferait une mutation, et qui conduit à la formation d'une structure cristallographique différente avec les mêmes molécules, phénomène rappelant la transformation de l'eau en glace, en neige ou en givre. On ne sait pas si l'on a affaire à des protéines infectieuses dépourvues d'ADN et d'ARN, que Gajdusek veut bien appeler "virus non conventionnels" dans la mesure où l'infectivité est induite dans le précurseur de l'hôte sans que la séquence des acides aminés en soit modifiée. Il s'agirait d'un changement de configuration de la molécule du précurseur mettant en jeu un lien de covalence, plutôt que d'une biosynthèse par transcription.

Le dernier conférencier à prendre la parole, le Dr J. Ayres, de la Wellcome Foundation (Royaume-Uni), s'est penché sur les problèmes auxquels pourrait être confrontée l'industrie pharmaceutique, qui fait amplement usage de produits d'origine animale pour la fabrication de médicaments et de produits biologiques courants (tels que vaccins et

biotechnology and to regular drug manufacture. Viral vaccines are prepared in cell cultures, which require complex media to support growth and are, in most cases, supplemented with materials of animal origin. There is, therefore, a potential for exposure to extraneous agents in every stage from growth of the seed culture to harvesting the vaccine. The inactivation purification stages are unlikely to be sufficiently rigorous to deal with BSE or scrapie, being typically designed to inactivate infectivity while retaining antigenicity, while attempts to move to simpler or synthetic media result in dramatic falls in antigen yield.

New products from biotechnology are equally dependant on animal materials. To deal with the problem of purifying small quantities of the required protein from the general mixture,manufacturers have used techniques such as immuno-absorbents on to immobilized columns of antibody raised in high-premium animals or in monoclonal cultures. Downstream purification is frequently rigorous, employing extremes of pH and repeated chromatographic infiltration techniques. The final purified protein requires stabilisation and stabilisers of human, porcine or bovine origin are often used.

The manufacturer of drugs is no less immune to the problem. Particular attention needs to be given to products that are essentially extracts of animal tissues such as bovine insulin, bovine lung surfactants and sialogangliosides. Perhaps the most overlooked are the broth media used in microbiological control and monitoring, which may be supplemented with beef extracts.

The emergence of BSE resulted in the Wellcome Foundation conducting a review of all its processes, materials and their sources to assess the potential burden of infectivity in source materials, mainly on the assumption that BSE would behave like scrapie. Results indicated a remote and minimal risk which, however, was considered unacceptable. The decision was taken to move to BSE free sources for bovine materials and to scrapie-free sources for ovine materials when the production process was not sufficiently rigorous to inactivate possible contamination. In addition, the cleandown and decontamination of production facilities has been enhanced, e.g. with the use of sodium hydroxide or hypochlorite solutions. A major component of all new projects is the avoidance or minimization of the use of materials of animal origin. Validation of purification processes, e.g. by deliberately adding scrapie virus and demonstrating its subsequent effective removal is now a requirement of licensure.

In summary, without information on BSE, the industry can only evaluate risk and hazards on the basis of information related to scrapie. Where bovine and ovine materials must be used and the nature of the product or process makes inactivation impossible, manufacturers should consider sourcing from no risk areas (such as New Zealand). There is no evidence that BSE represents any more than a remote and unlikely risk to man. If it is a risk, then carry-over in pharmaceuticals should be very low and probably at the risk level already accepted, i.e., that which is equivalent to bacterial contamination in sterile products. Nevertheless, the move to risk-free sources is advised based on commercial considerations. Where there is so much public concern, it is the only possibility.

Several working groups discussed the issues and made recommendations which are summarized below. It was noted that the incidence of scrapie in Canada is low compared with the U.K. and relatively the same as in the U.S. While there is a limited potential in Canada for transmission of scrapie to meat animals from sheep offal processed into ruminant feed, a basic strategy is needed to control this risk. About 80% of all sheep in North America are processed in a dozen packing houses, and there are a limited number of renderers. The National Renderers' Association

antisérums). On a élargi l'utilisation de tels produits aux nouveaux domaines de la biotechnologie et à la fabrication de médicaments conventionnels. Ainsi, les vaccins antiviraux sont préparés dans des cultures cellulaires qui nécessitent des milieux complexes à base de produits d'origine animale. Il existe donc un risque d'exposition à des agents étrangers à tous les stades de fabrication, depuis l'ensemencement de la culture jusqu'à la récolte du vaccin. Les étapes d'inactivation et de purification, dont l'objet consiste essentiellement à détruire le pouvoir pathogène d'un agent ou d'une toxine mais à conserver ses propriétés antigéniques, risquent de ne pas être assez rigoureuses pour prévenir l'infection par l'ESB ou l'ESM. Les essais de milieux de culture moins complexes ou synthétiques se sont soldés par une baisse considérable de la quantité d'antigènes produites.

La fabrication des nouveaux produits issus de la biotechnologie repose également sur l'utilisation de matières d'origine animale. Pour résoudre le problème soulevé par la purification de petites quantités de la protéine désirée, les fabricants ont appliqué des techniques telles que les immuno-adsorbants sur des colonnes immobilisées d'anticorps produits par des animaux de race ou des cultures monoclonales. La purification en aval est un procédé rigoureux qui fait souvent appel à des pH extrêmes et à des infiltrations chromatographiques répétées. La protéine purifiée ainsi obtenue doit être stabilisée; on utilise souvent pour ce faire des stabilisants d'origine humaine, porcine ou bovine.

Les fabricants de médicaments font face aux mêmes difficultés. Il faut porter une attention particulière aux produits qui sont essentiellement des extraits de tissus animaux : insuline et surfactants pulmonaires d'origine bovine, sialogangliosides. À ce chapitre, les bouillons utilisés à des fins de contrôle ou de surveillance microbiologique, qui peuvent contenir des extraits de boeuf, sont probablement les produits auxquels on a accordé le moins d'attention.

Par suite de l'apparition de l'ESB, la Wellcome Foundation a révisé tous ses procédés et reconsidéré ses politiques concernant l'utilisation des diverses matières premières et leurs sources d'approvisionnement afin d'évaluer le risque d'infectivité des matières premières, en bonne partie sur la foi de l'hypothèse que l'ESB se comporterait comme l'ESM. Cette évaluation a révélé que le risque était très faible, mais tout de même inacceptable. On a donc décidé de limiter l'approvisionnement en produits d'origine bovine et ovine à des sources non infectées par les agents de l'ESB ou de l'ESM, respectivement, dans les cas où les procédés de fabrication ne sont pas suffisamment rigoureux pour inactiver toute source possible de contamination. En outre, les procédés de nettoyage et de décontamination des installations de production ont été améliorés, grâce notamment à l'utilisation de solutions d'hydroxyde ou d'hypochlorite de sodium. Une autre mesure importante prise dans le cadre de tout nouveau projet consiste à éviter ou à réduire au minimum l'utilisation de matières premières d'origine animale. Enfin, la validation des procédés de purification, démarche qui consiste à ajouter délibérément le virus de l'ESM puis à démontrer qu'il a été éliminé, est maintenant une exigence préalable à l'émission de permis.

En résumé, faute de données suffisantes sur l'ESB, l'industrie doit se fonder sur les connaissances sur l'ESM pour évaluer les risques et les dangers. Lorsque l'utilisation de produits bovins et ovins est nécessaire et que la nature de ces produits ou les procédés utilisés empêchent le recours à des procédés d'inactivation, les fabricants devraient s'approvisionner à partir de sources provenant de régions qui ne présentent pas de risque (telles que la Nouvelle-Zélande). Rien n'indique que l'ESB représente plus qu'un risque très faible, voire improbable pour l'homme. Si toutefois une telle menace existait, le risque de contamination des produits pharmaceutiques serait très faible et probablement comparable à un niveau de risque déjà accepté, soit celui de la contamination bactérienne dans le cas des produits stériles. Néanmoins, pour des raisons d'ordre commercial, on conseille aux fabricants de s'approvisionner à des sources qui ne présentent pas de risque; vu la préoccupation publique, c'est la seule solution possible.

Plusieurs groupes de travail ont discuté de ces problèmes et fait des recommandations qui sont résumées plus loin dans le texte. Il a été noté que le taux de survenue de l'ESM au Canada est plus faible qu'au Royaume-Uni et relativement le même qu'aux États-Unis. Même si le risque de sa transmission aux animaux de boucherie par le biais d'abats de mouton transformés en aliments pour le bétail est faible, il demeure nécessaire d'élaborer une stratégie de base afin de prévenir ce risque. Une douzaine d'abattoirs seulement transforment près de 80 % de tous les moutons élevés en Amérique du Nord, et le nombre d'ateliers d'équarissage est limité. La

has developed guidelines to direct sheep offal away from feed used in ruminant rations for use in non-animal feeds; if not, the head, spinal cord and other offal should be diverted before rendering. In conjunction with the longer term approach of developing certified flocks free from scrapie in Canada, this would eliminate the risk of BSE developing in Canadian cattle from indigenous sources.

There is no evidence that Canadian cattle have BSE at the present time (assay of tissue such as lymph nodes and spleen would be helpful). The brains of cattle submitted for rabies testing will now be examined for BSE. Likewise, a protocol to examine the brains of cattle, 3 years of age and older with suspicious clinical signs, is to be established in provincial laboratories and veterinary schools.

A joint U.S./Canadian Consultative Committee on BSE has been established to ensure free flow of information. The ban on importation of ruminant livestock and livestock feeds of ruminant origin should be continued.

The research/surveillance discussion group agreed that there is no way of assessing the risk BSE may pose to human health short of inoculating humans or awaiting results of long-term epidemiological studies. In the time available, therefore, the group concentrated as much as possible on the possibility of establishing an objective diagnostic test for the disease.

In discussing the agent, it was observed that one infectious unit of material causing the disease requires as many as 3×10^5 molecules and to cause crystallisation of a protein and the nucleation effect, as many as 10^4 units. Epidemiological studies of CJD in areas of infected vs. non-infected sheep flocks might provide some perspective on risk. Canada should continue the program of collecting data on CJD cases which was initiated in the 60s and 70s.

Further activities suggested were attempts to identify nucleic acid possibly associated with the protein in question; fingerprinting the polypeptides in spinal fluid of infected and uninfected sheep or other species in 2-dimensional gels; efforts to identify abnormal white blood cells in peripheral blood, which could be practical for screening/diagnosis of infected animals. The biopsy of lymph nodes, spleen, etc., for the precursor protein could also be used for early detection. Tissue culture cell lines, which are susceptible to the virus, have been established, enabling the presence of the agent to be detected using biochemical means as early as 6 months after infection. Studies of the efficacy of different rendering processes are also necessary.

During a rather technical discussion concerning amyloidosis, it was pointed out that no other subacute/chronic neurological disease that might have a similar causation is currently being seriously investigated.

This summary was prepared by Dr. John Davies, Laboratory Centre for Disease Control, Department of National Health and Welfare, Ottawa, Ontario.

The Canada Diseases Weekly Report presents current information on infectious and other diseases for surveillance purposes and is available free of charge upon request. Many of the articles contain preliminary information and further confirmation may be obtained from the sources quoted. The Department of Health and Welfare does not assume responsibility for accuracy or authenticity. Contributions are welcomed (in the official language of your choice) from anyone working in the health field and will not preclude publication elsewhere.

Scientific Advisory Board:	Dr. J. Spika	(613) 957-4243
	Dr. A. Carter	(613) 957-1339
	Dr. K. Rozee	(613) 957-1329
Editor:	Eleanor Paulson	(613) 957-1788
Desktop Publishing	Joanne Regnier	(613) 957-7845
Circulation:	Gertrude Tardiff	(613) 957-0842

Bureau of Communicable Disease Epidemiology
Laboratory Centre for Disease Control
Turney's Pasture
OTTAWA, Ontario Canada K1A 0L2

National Renderers' Association a élaboré des lignes directrices afin de faire en sorte que les abats de moutons n'entrent plus dans la fabrication d'aliments pour le bétail, à moins que la tête, la moelle épinière et les autres issues n'aient été enlevés au préalable. Cette mesure, conjuguée à l'adoption d'une stratégie à plus long terme visant à constituer au Canada un cheptel certifié non atteint d'ESM, permettrait d'éliminer le risque de transmission de l'ESB au bétail canadien à partir de sources indigènes.

À l'heure actuelle, rien n'indique que le bétail canadien soit atteint d'ESB (à cet égard, des examens effectués sur des tissus tels que les ganglions lymphatiques et la rate pourraient fournir des renseignements utiles). Dorénavant, on recherchera l'ESB dans les cerveaux reçus en laboratoire pour le dépistage de la rage. En outre, on prévoit d'élaborer dans les laboratoires provinciaux et dans les écoles de médecine vétérinaire un protocole pour l'examen des cerveaux de bestiaux âgés d'au moins 3 ans et présentant des signes cliniques suspects.

On a créé un comité consultatif canado-américain de l'ESB afin de favoriser l'échange d'information entre les 2 pays. On devrait également continuer d'interdire l'importation de ruminants et d'aliments pour le bétail fabriqués à partir d'abats de ruminants.

Le groupe de discussion sur la recherche et la surveillance a reconnu qu'il est impossible d'évaluer le risque que présente l'ESB pour la santé humaine. Comme il n'est pas question d'inoculer les populations humaines, il faut attendre les résultats des enquêtes épidémiologiques de longue durée. Le groupe a donc consacré le temps dont il disposait à discuter de la possibilité de mettre au point une épreuve diagnostique objective.

En ce qui a trait à l'agent pathogène lui-même, on a indiqué qu'une unité infectieuse de matière doit contenir jusqu'à 3×10^5 molécules pour pouvoir transmettre la maladie et que la cristallisation de la protéine et l'effet de nucléation exigent jusqu'à 10^4 unités. Les enquêtes épidémiologiques sur la MCJ réalisées dans des régions où l'on trouve des troupeaux de moutons infectés et dans d'autres où les troupeaux sont sains fourniront peut-être des indications sur le niveau de risque quant à l'ESB. Le Canada devrait continuer de recueillir des données sur les cas de MCJ amorcé au cours des années 1960 et 1970.

Au nombre des autres travaux proposées, mentionnons des expériences visant à identifier l'acide nucléique pouvant être associé à la protéine en cause; la cartographie sur gels bidimensionnels des polypeptides provenant du liquide céphalorachidien de moutons et d'autres espèces animales infectés et non infectés; des études visant à identifier les leucocytes anormaux dans le sang en cas d'infection, ce qui pourrait se révéler utile pour le dépistage des animaux infectés. On pourrait également pratiquer, à des fins de détection précoce, des biopsies des ganglions lymphatiques, de la rate et d'autres organes à la recherche de la protéine précurseur. On a mis au point par culture de tissus des lignées cellulaires réceptives au virus, ce qui permet de déceler à l'aide de techniques biochimiques la présence de l'agent pathogène dès le sixième mois suivant l'infection. Il faut également effectuer des études sur l'efficacité relative des diverses procédés de récupération des déchets d'animaux de boucherie.

Au cours de la discussion passablement technique sur l'amyloïdose qui s'est ensuivie, il a été signalé qu'aucune des autres maladies neurologiques subaiguës ou chroniques susceptibles d'avoir des causes semblables ne fait l'objet de recherches sérieuses pour l'instant.

Ce compte rendu a été préparé par le Dr John Davies, Laboratoire de lutte contre la maladie, Santé et Bien-être social Canada, Ottawa (Ontario).

Le Rapport hebdomadaire des maladies au Canada, qui fournit des données pertinentes sur les maladies infectieuses et les autres maladies dans le but de faciliter leur surveillance, peut être obtenu gratuitement sur demande. Un grand nombre d'articles ne contiennent que des données sommaires mais des renseignements complémentaires peuvent être obtenus en s'addressant aux sources citées. Le ministre de la Santé nationale et du Bien-être social ne peut être responsable de l'exactitude, ni de l'authenticité des articles. Toute personne oeuvrant dans le domaine de la santé est invitée à collaborer (dans la langue officielle de son choix) et la publication d'un article dans le présent Rapport n'en empêche pas la publication ailleurs.

Groupe de conseillers scientifiques:	Dr J. Spika	(613) 957-4243
	Dr A. Carter	(613) 957-1339
	Dr K. Rozee	(613) 957-1329
Rédactrice en chef:	Eleanor Paulson	(613) 957-1788
Éditique:	Joanne Regnier	(613) 957-7845
Distribution:	Gertrude Tardiff	(613) 957-0842

Bureau d'épidémiologie des maladies transmissibles
Laboratoire de lutte contre la maladie
Pré Tunney
OTTAWA (Ontario)
Canada K1A 0L2