

AVIS

de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments concernant l'évaluation des effets de la technique du délimonage appliquée aux intestins d'ovins au regard du risque d'encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles.

I- Rappel du contexte :

Considérant que l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments a rendu un avis en date du 14 février 2001 concernant l'actualisation de la liste des matériels à risque spécifié chez les ovins et les caprins ; que cet avis recommandait notamment d'écartier de la consommation humaine :

- outre le système nerveux central, l'ensemble des viscères thoraciques et abdominaux des ovins, quels que soient leur âge et leur statut (marqués ou non marqués), issus de troupeaux atteints de tremblante ;
- les intestins des animaux, quel que soit leur âge, issus de troupeaux non concernés par la police sanitaire ;

Considérant que, compte tenu des arguments présentés par les professionnels, en particulier la chambre syndicale de la boyauterie française, il a été estimé opportun de mettre en place une étude visant à évaluer les effets du traitement mécanique des intestins d'ovins (technique dite du délimonage) sur la persistance des tissus cibles des ESST et sur la réduction du titre infectieux qu'ils peuvent contenir ;

Considérant que l'Agence a formulé un avis en date du 18 juillet 2001¹ sur un projet d'arrêté modifiant la liste des matériaux à risque spécifié, sans y inclure les intestins, les auteurs de la saisine souhaitant disposer des conclusions de l'étude mentionnée ci-dessus.

II- Protocole d'évaluation des effets du délimonage sur l'intestin de mouton atteint d'ESST.

Considérant que l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments a élaboré² un protocole en trois étapes visant à estimer les effets du délimonage sur les intestins d'ovins au regard du risque d'ESST :

23, avenue du
Général de Gaulle
BP 19, 94701
Maisons-Alfort cedex
Tel 01 49 77 13 00
Fax 01 49 77 90 05
www.afssa.fr

¹ Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à un projet de texte visant notamment à modifier la liste des matériels à risque spécifié chez les petits ruminants.

² Le protocole a été élaboré en liaison avec les trois laboratoires qui ont accepté d'y participer (laboratoire d'histopathologie animale de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes ; l'UMR INRA ; Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse ; laboratoire d'étude et de recherche en pathologie bovine de l'AFSSA Lyon).

- Protocole 1 : analyse histologique d'intestins délimonés et non délimonés provenant d'ovins indemnes d'ESST. Ce protocole vise à estimer dans quelle mesure le traitement mécanique auquel sont soumis les intestins supprime les formations anatomiques susceptibles de contenir l'agent infectieux.
- Protocole 2 : estimation de la présence de protéine du prion pathologique (PrP-Sc) au sein d'intestins délimonés et non délimonés provenant d'ovins atteints de tremblante. Ce protocole inclut une analyse qualitative de la présence de PrP-Sc au sein de ces intestins, par immuno histo-chimie, ainsi qu'une estimation semi-quantitative, par les techniques de western blot et d'ELISA.
- Protocole 3 : estimation quantitative de l'infectiosité résiduelle présente au sein des intestins délimonés et non délimonés provenant d'ovins atteints de tremblante par inoculation intracérébrale à la souris.

Considérant que l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments a soumis au comité d'experts spécialisé sur les ESST les résultats des deux premiers protocoles de cette étude afin qu'il en fasse l'expertise et qu'il se prononce sur l'opportunité d'initier la troisième étape;

III- Analyse, par le Comité d'experts spécialisé sur les ESST, des résultats des deux premiers protocoles de l'étude³ :

“Considérant que le Comité d'Experts Spécialisé sur les ESST a été consulté sur les résultats d'études portant sur le délimonage d'intestins de petits ruminants,

Considérant que ces études avaient pour objectif d'identifier si cette technique de délimonage est de nature à modifier l'avis de l'AFSSA du 14 février 2001, qui recommandait le retrait de la chaîne alimentaire des intestins de petits ruminants,

Considérant qu'une étude histologique comparative d'intestins délimonés et non délimonés menée par le laboratoire d'Histopathologie Animale de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes a mis en évidence la persistance, après délimonage, de tissus nerveux et lymphoïde, sites connus de l'accumulation de PrP pathologique,

Cette étude (MW/SL/HAP 01-12 : Estimation des effets du délimonage sur l'infectiosité de l'intestin grêle du mouton atteint de tremblante naturelle ; Protocole 1 : Etude histologique d'intestins grêles non délimonés et délimonés de moutons indemnes de Tremblante naturelle) a consisté à comparer des séries représentatives de coupes histologiques du duodénum, du jéjunum et de l'iléon de 3 lots de 5 intestins non délimonés (chaque lot provenant d'un abattoir différent) et délimonés (lots de même taille et de même provenance). Le but principal était d'évaluer le degré d'élimination par le délimonage des structures connues pour contenir, chez les ovins contaminés naturellement par la tremblante, une accumulation pathologique de PrP, c'est à dire le tissu lymphoïde (notamment les follicules lymphoïdes, regroupés ou non en plaques de Peyer) et les plexus nerveux autonomes de l'intestin (plexus sous-muqueux et plexus myentérique). Ce travail a clairement montré la persistance constante après délimonage des plexus nerveux sous-muqueux. Il indique également la persistance probable (mais

³ Avis du 1^{er} novembre 2001 du Comité d'experts spécialisé sur les ESST présidé par le Professeur Marc ELOIT.

plus difficile à montrer expérimentalement) de reliquats des plexus myentériques (sur les lots examinés, il semble que la tunique muscleuse, qui renferme ces plexus myentériques, est éliminée en grande partie mais non totalement par le délimonage). Il montre enfin la persistance, dans des reliquats de muqueuse, de cellules inflammatoires, difficiles à identifier formellement par l'examen microscopiques mais devant être considérées comme majoritairement lymphoïdes et macrophagiques ; ces cellules sont, soit dispersées, soit regroupées en petits amas interprétables comme des reliquats de follicules lymphoïdes.

Considérant qu'une recherche de PrP pathologique par immunohistochimie dans la paroi d'intestins non délimonés et délimonés, issus d'ovins en phase clinique de Tremblante, menée par l'UMR INRA-Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse a mis en évidence la présence de signaux positifs, après délimonage,

Cette étude (Protocole AFSSA/DGAI/INRA-ENVT : Recherche de PrPres par immunohistochimie dans la paroi d'intestins délimonés et non délimonés, issus d'ovins en phase clinique de tremblante, version provisoire établie le 16.10.01) a comparé, par marquage immunohistochimique, l'accumulation pathologique de PrP dans l'intestin de 20 ovins atteints de tremblante clinique (attestée par l'observation de symptômes cliniques et la présence de PrP pathologique dans le tronc cérébral), 10 intestins ayant subi préalablement une opération de délimonage réalisée en milieu industriel. Ce travail, effectué à raison de 10 coupes d'intestin régulièrement réparties pour chaque animal, a confirmé sur les intestins non délimonés la présence systématique (déjà connue) d'un signal positif dans les plexus nerveux autonomes et les formations lymphoïdes associées au tube digestif. Des signaux positifs ont été retrouvés sur tous les intestins délimonés, mais sur un nombre variable de coupes, dans les plexus nerveux, dans des reliquats de follicules lymphoïdes encore présents et à l'état libre dans l'interstitium. L'intensité du marquage apparaît plus faible dans les intestins délimonés ; ce fait semble résulter de l'élimination partielle des tissus renfermant ce signal. Il est méthodologiquement impossible de quantifier objectivement et précisément cette réduction de signal .

Considérant que le caractère infectieux de l'intestin grêle d'ovins infectés par la tremblante naturelle a été montré par inoculation à la souris dès l'âge de 10 mois (Hadlow et al. 1982) qu'une accumulation pathologique de PrP a été montrée par immunohistochimie dès l'âge de 2 mois chez des agneaux de génotype sensible provenant d'un troupeau à forte incidence de tremblante (Andréoletti et al. 2000); que la mise en évidence immunohistochimique d'une accumulation pathologique de PrP doit être assimilée, dans l'état actuel des connaissances, à la présence de PrP résistante à la protéinase K et à une infectiosité; que le Comité ne dispose pas de moyen d'écartier qu'un niveau de PrP pathologique détectable en immunohistochimie puisse correspondre à un niveau d'infectiosité pathogène pour l'homme, à doses unique ou répétées, dans l'hypothèse de la présence d'une souche d'ESB chez les petits ruminants.

Le Comité émet l'avis suivant :

- i) *les données désormais disponibles sur le délimonage d'intestins ne conduisent pas à modifier la recommandation de retrait de la chaîne alimentaire des intestins de petits ruminants,*
- ii) *des données complémentaires sur la quantification de la réduction de la charge en PrPres, par exemple par Western-Blot, et de la charge infectieuse, par inoculation aux souris, ne seraient pas de nature à modifier cet avis. Le Comité attire d'autre part l'attention sur les difficultés méthodologiques de ce type d'expérimentations,*

iii) *en revanche,*

- a. *l'acquisition de ces données permettrait d'améliorer, en cas de besoin, l'analyse du risque d'exposition passée des consommateurs,*
- b. *plus généralement, une évaluation objective du titre infectieux des organes périphériques de petits ruminants en incubation d'une ESST, en fonction de l'âge, sous réserve de la maîtrise des difficultés méthodologiques inhérentes à ce type de travail, serait de nature à permettre une meilleure compréhension de la physiopathologie de ces maladies dans ces espèces et à affiner l'analyse qui peut être portée sur le risque qu'une éventuelle transmission aux petits ruminants de l'ESB ferait courir au consommateur.*

Le Comité recommande donc que les études correspondantes puissent être conduites.”

IV- Conclusions :

Compte tenu de ces éléments, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments :

- maintient les recommandations émises dans l'avis du 14 février 2001 et rappelées dans l'avis du 18 juillet 2001 ;
- estime que ces résultats complémentaires justifient, comme préconisé dans l'avis du 18 juillet 2001, que si les intestins de petits ruminants ne sont pas retirés de la consommation humaine, les produits concernés puissent faire l'objet d'une identification permettant une information du consommateur ;
- poursuit le protocole d'étude selon les deux objectifs énoncés par le Comité d'experts spécialisé.

Fait à Maisons-Alfort, le 8 novembre 2001

Le Directeur général de l'Agence française
de sécurité sanitaire des aliments

Martin HIRSCH

ANNEXE**Références**

ANDREOLETTI, O., BERTHON,P., MARC,D., SARRADIN,P., GROSCLAUDE,J., VAN KEULEN,L., SCHELCHER,F., ELSEN,J.M.& LANTIER,F. (2000) Early accumulation of PrP(Sc) in gut-associated lymphoid and nervous tissues of susceptible sheep from a Romanov flock with natural scrapie. *J.Gen.Virosl.*, **81**, pp.3115-3126.

HADLOW,W.J, KENNEDY,R.C & RACE,R.E. (1982) Natural infection of Suffolk sheep with scrapie virus. *J.Infect.Dis*, **146**, pp. 657-664.