

ESTIMATION DE LA PRÉVALENCE RÉELLE DE L'ENCÉPHALOPATHIE SPONGIFORME BOVINE EN BELGIQUE EN 2002 ET 2003*

**Julie Penders¹, Dick Berkvens², Claude Saegerman¹,
Nicolas Praet², Marc Dispas³, Sonja Verbraeken⁴,
Stefan Roels³ et Etienne Thiry⁵**

RESUME : Le taux de prévalence apparente moyenne de l'encéphalopathie spongiforme bovine en Belgique en 2002 et 2003 était de $6,29 \cdot 10^{-5}$. Depuis 2001, le système de dépistage de cette zoonose repose principalement sur l'utilisation d'un test « rapide ». Le seul test rapide utilisé en Belgique à cette époque était le test Platelia[®] commercialisé par la firme Bio-Rad. Lors de la mise au point de ce test, sa sensibilité et sa spécificité ont été estimées respectivement à 100% [intervalle de confiance 95 % (IC 95 %) : 99 - 100%] et 100% [IC 95 % : 99,7 - 100%]. Pour ce faire, la sensibilité a été définie comme la capacité du test à identifier correctement un animal cliniquement atteint d'ESB, et la spécificité comme la capacité à identifier correctement un animal non-infecté. Ce test a pourtant été utilisé à grande échelle comme moyen de dépistage au sein d'une population d'animaux ne présentant pas de manifestations cliniques d'ESB. Dans ces conditions, la sensibilité et la spécificité du test pourraient donc s'éloigner des valeurs initiales et la prévalence réelle de l'ESB pourrait diverger de la prévalence apparente. Les sensibilité et spécificité du test rapide utilisé, ainsi que la prévalence réelle de l'ESB en Belgique ont été estimées par méthode bayésienne pour les années 2002 et 2003. Les données a priori ont été obtenues par avis d'experts et la vraisemblance a été déterminée grâce aux données concernant les animaux testés. Une distribution a posteriori de la prévalence de l'ESB a été déterminée par des méthodes Markov Chain Monte Carlo avec échantillonneur de Gibbs. Le taux de prévalence réelle de l'ESB en Belgique en 2002 et 2003 se situe dans un intervalle de crédibilité (IC) allant d'un ordre de grandeur de 10^{-7} à 10^{-5} . Les spécificité et sensibilité du test rapide ont été estimées respectivement à 99,99% [IC : 99,99 – 100 %] et 91,23% [IC : 81,69 - 91,64 %]. Cette étude montre l'importance d'une analyse critique de la sensibilité et de la spécificité des tests de diagnostic de l'ESB et de la prévalence apparente de cette zoonose, vu leurs conséquences importantes pour l'épidémiologie active et passive.

Mots clés : Encéphalopathie spongiforme bovine, test rapide, modélisation bayésienne, prévalence réelle, sensibilité, spécificité.

* Texte de la conférence présentée à la Journée AEEMA, 20 mai 2005

¹ Epidémiologie et analyse de risques appliquées aux sciences vétérinaires, Département des maladies infectieuses et parasitaires, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Liège, Boulevard de Colonster, 20, B42, B-4000 Liège, Belgique

² Department of Tropical Animal Health and Production, Institute of Tropical Medicine, Nationalestraat 155, B-2000 Antwerp, Belgique

³ Centre d'étude et de recherches vétérinaires et agrochimiques, Groeselenberg 99, B-1180 Uccle, Belgique

⁴ Agence fédérale belge pour la sécurité de la chaîne alimentaire, WTC III, Boulevard Simon Bolivar 30, 20^{ème} étage, B-1000 Bruxelles, Belgique

⁵ Service de virologie et pathologie des maladies virales, Département des maladies infectieuses et parasitaires, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Liège, Boulevard de Colonster 20, B43b, B-4000 Liège, Belgique

SUMMARY: In 2002 and 2003, the mean apparent prevalence of bovine spongiform encephalopathy (BSE) in Belgium was of $6.29 \cdot 10^{-5}$. Since 2001, the detection system of this zoonosis has been based mainly on the use of a "rapid" test. The only rapid test in use in Belgium at that time was the Platelia[®] test, commercialized by Bio-Rad. At the development of the test, its sensitivity and specificity were estimated at 100% [95 % confidence interval (95% CI): 99 - 100%] and 100% [95% CI: 99.7% - 100%] as the ability to accurately identify a non-infected animal. However, this test has generally been used in order to screen non-clinical populations. Under these conditions, the sensibility and specificity of the test could differ from the initially calculated values, and the true prevalence of BSE could diverge from the apparent prevalence. The sensibility and specificity of the rapid test, as well as the true prevalence of BSE in Belgium, have thus been estimated by Bayesian methods for the years 2002 and 2003. Prior distributions were obtained from expert opinion, and likelihood was based on data from tested animals. The posterior distribution of the true BSE prevalence used Markov Chain Monte Carlo Gibbs sampling. In 2002 and 2003, the true BSE prevalence in Belgium is situated in a credibility interval (CI) going from approximately 10^{-7} to 10^{-5} . The specificity and sensitivity of the rapid test were estimated at 99,99% [CI : 99.99 – 100%] and 91,23% [CI : 81.69 - 91.64%] respectively. This study shows the importance of a critical study of the sensitivity and specificity of BSE diagnostic tests, as well as the apparent prevalence of this zoonosis, as their discrepancy with initial values could have important consequences for active and passive epidemiosurveillance of BSE.

Keywords: Bovine spongiform encephalopathy, rapid test, bayesian approach, true prevalence, sensitivity, specificity.



I – INTRODUCTION

L'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) est une maladie neuro-dégénérative d'évolution lente et progressive dont l'issue est toujours fatale. Elle fait partie du groupe des encéphalopathies spongiformes transmissibles (EST) [Lasmézas, 2003]. Ces affections provoquent une vacuolisation des neurones (spongiose), une gliose, une hypertrophie des astrocytes et un dépôt de plaques amyloïdes faisant suite à l'accumulation d'une isoforme anormale de la protéine prion⁶ [Kimberlin, 1992 ; Prusiner *et al.*, 1998 ; Lasmézas, 2003]. Elles sont caractérisées par une longue période d'incubation et par la transmissibilité entre espèces [Lasmézas, 2003 ; Trevitt et Singh, 2003].

L'image clinique de l'ESB n'est cependant pas pathognomonique et un diagnostic de confirmation est indispensable lors de toute suspicion chez un animal [Saegerman *et al.*,

2003, 2004 et 2005]. Ce diagnostic est fondé sur la mise en évidence de l'isoforme anormale de la protéine prion que l'on associe à l'infektivité [Prusiner *et al.*, 1998] et qui est résistante à la digestion par la protéinase K (PrP^{res}).

En 1996, un pic d'intérêt a été constaté pour l'ESB à la suite de la découverte de son caractère zoonotique après la première description d'une nouvelle variante de la maladie de Creutzfeldt-Jakob (vCJD) [Bruce *et al.*, 1997 ; Hill *et al.*, 1997 ; Scott *et al.*, 1999 ; Thiry *et al.*, 2004 ; Saegerman *et al.*, 2005b]. Suite à cela, un nombre de mesures additionnelles ont été adoptées pour protéger la santé publique au rang desquelles figure l'interdiction d'utilisation des matériels à risque spécifié qui est applicable en Belgique depuis 1^{er} février 1998 [Commission européenne, 1997 ; Saegerman *et al.*, 2001].

⁶ La conversion post-transcriptionnelle de la protéine normale d'origine cellulaire (PrP^c) en une isoforme anormale causant la maladie (PrP^{res}) implique un changement conformationnel [Pan *et al.*, 1993] qui s'accompagne d'un changement profond des propriétés de la protéine. La PrP^{res} est thermorésistante, insoluble en présence de détergent et partiellement résistante à la protéolyse. La fraction restante après l'un et/ou l'autre traitement est nommée PrP^{res} [Saegerman *et al.*, 2005b]

Des tests rapides pour la détection de la PrP^{res} dans le SNC ont été disponibles en 1999 et ont permis d'examiner un grand nombre d'échantillons, même ceux de qualité inférieure et ce, dans un court délai [Moynagh et Schimmel, 1999 ; Schaller *et al.*, 1999 ; Saegerman *et al.*, 2005b]. En application du règlement 999/2001/CE [Parlement européen et Conseil, 2001], le dépistage systématique de l'ESB chez les bovins abattus et destinés au clos d'équarrissage a été mis en place en Belgique, dès janvier 2001, en utilisant le test rapide Platelia[®] de la firme Bio-Rad (récemment remplacé par le test TeSeE de la même firme) [Pastoret *et al.*, 2001].

Tous les échantillons positifs au test de dépistage ont été soumis à l'application de tests de confirmation approuvés par l'Union européenne : un test histopathologique montrant des lésions vacuolaires sur coupe du SNC, un test de détection par microscopie électronique des fibrilles associées à la tremblante (*Scrapie Associated Fibrils*, SAFs) et un test immunohistochimique détectant des amas de PrP^{res} par réaction immunoenzymatique [Vanopdenbosch *et al.*, 1998]. Le test de Western Blotting n'a été utilisé en Belgique qu'à partir de janvier 2004 [Roels *et al.*, 2004].

La sensibilité et la spécificité du test Platelia[®] ont été initialement estimées respectivement à 100 % [IC 95 % : 99 – 100 %] et 100 % [IC 95 % : 99,7 - 100 %] [Moynagh et Schimmel, 1999]. Lors de la mise au point de ce test ELISA, la sensibilité a été définie comme la capacité du test à identifier correctement un animal cliniquement atteint d'ESB et la

spécificité comme la capacité à identifier correctement un animal non-infecté. Le test Platelia[®] est pourtant utilisé à grande échelle comme moyen de dépistage actif au sein d'une population d'animaux ne présentant pas de manifestations cliniques d'ESB. Dans ces conditions, la sensibilité et la spécificité du test pourraient donc s'éloigner des valeurs initiales. Par ailleurs, les sensibilité et spécificité des tests classiques sont inconnues.

En Belgique, conformément à la législation européenne [Commission européenne, 2000], un régime de rachat de bovins sans application d'un test rapide a été employé pendant la période du 1^{er} janvier au 30 juin 2001 dans le but d'abattre et de détruire totalement tous les animaux achetés (mesures exceptionnelles de soutien au marché de la viande bovine) [Saegerman *et al.*, 2005b]. Par ailleurs, au clos d'équarrissage, le dépistage systématique des bovins morts âgés de plus de 24 mois n'a été effectif que depuis le 1^{er} septembre 2001 [Saegerman *et al.*, 2005b]. Pour ces raisons, la présente étude se focalise sur les années 2002 et 2003. Durant cette période, 99 animaux ont été trouvés positifs aux tests de confirmation de la présence de PrP^{res} au niveau de leur SNC [Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire, 2005].

L'objectif de ce travail a été d'estimer le degré de divergence de la prévalence apparente par rapport à une estimation de la prévalence réelle, obtenue par modélisation bayésienne. Cette modélisation a par ailleurs permis d'estimer la sensibilité et de la spécificité du test rapide.

II – MATERIELS ET METHODE

1. DEFINITIONS

Vu la divergence entre les conditions pratiques d'utilisation du test rapide et celles dans lesquelles la sensibilité de ce test a été estimée [Moynagh & Schimmel, 1999], les définitions suivantes de la sensibilité et de la spécificité d'un test ont été utilisées :

1.1. SENSIBILITE D'UN TEST

La sensibilité d'un test est considérée comme la probabilité qu'un bovin réellement infecté fournisse une réponse positive au test utilisé. Un bovin réellement infecté par l'agent de l'ESB a été considéré comme un animal dont

l'injection de broyat de SNC dans le SNC de cinq souris sensibles à l'agent de l'ESB induit chez au moins l'une d'entre elles l'apparition d'une EST.

1.2. SPECIFICITE D'UN TEST

La spécificité d'un test est considérée comme la probabilité qu'un bovin réellement indemne fournisse une réponse négative au test utilisé. Un bovin réellement indemne à l'agent de l'ESB a été considéré comme un animal dont l'injection de broyat de SNC dans le SNC de 5 souris sensibles à l'agent de l'ESB n'induit

chez aucune d'entre elles l'apparition d'une EST.

Ces définitions tentent de refléter au mieux la situation d'une zoonose en période d'incubation, tout en permettant la vérification des hypothèses posées sur un modèle de souris rendues susceptibles à l'ESB par manipulation génique [Prusiner *et al.*, 1998].

2. MATERIELS

2.1. POPULATION ETUDIEE

Les effectifs ont été dénombrés en consultant la base de données ESB de l'Agence fédérale belge pour la sécurité de la chaîne alimentaire (AFSCA). Il s'agit de l'entièreté des bovins testés en Belgique en vue du dépistage de la protéine prion dans leur SNC, que le résultat des tests ait été positif ou négatif, pendant les

années 2002 et 2003. Les effectifs des bovins testés et ayant fourni une réponse positive au test rapide ainsi que le calcul de la prévalence apparente sont repris dans le tableau I. Les variables suivantes ont été collectées :

- pour les animaux à réponse négative : le numéro d'identification, le sexe, l'âge, le numéro du troupeau de provenance, le résultat ainsi que la densité optique du test rapide de dépistage ;
- pour les animaux à réponse positive : le numéro d'identification, le sexe, l'âge, le numéro du troupeau de provenance, le résultat ainsi que la densité optique du test rapide de dépistage, les résultats des tests de confirmation.

Tableau I

Calcul de la prévalence apparente de l'encéphalopathie spongiforme bovine en Belgique, durant les années 2002 et 2003.

Source : base de données ESB de l'Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire.

Légende : Sont indiqués les effectifs d'animaux testés, les animaux détectés positifs par le réseau d'épidémiosurveillance, ainsi que le taux de prévalence apparente de l'encéphalopathie spongiforme bovine en Belgique. L'intervalle de confiance 95 % (IC 95 %) est repris entre parenthèses.

Année	Nombre total d'animaux testés	Nombre total d'animaux à réponse positive	Taux de prévalence apparente x 10 ⁻⁵ (IC 95%)
2002	450.419	38	8,44 (5,97 – 11,58)
2003	392.465	15	3,82 (2,14 – 6,30)
Total	842.884	53	6,29 (4,71 – 8,22)

2.2. TESTS UTILISES

2.2.1. Test rapide de dépistage

Le test rapide qui a été utilisé détecte la PrP^{res} grâce à une méthode « ELISA sandwich », après dénaturation par la protéinase K et concentration (test Bio-Rad TeSeE, précédemment appelé test Bio-Rad Platelia). La réaction enzymatique du test Bio-Rad est proportionnelle à la quantité de PrP^{res} initialement introduite dans le test [Grassi *et al.*, 2001 ; Saegerman *et al.*, 2005b].

2.2.2. Tests de confirmation

Le diagnostic de confirmation est réalisé grâce à un test histopathologique montrant des lésions vacuolaires sur coupe du SNC, un test

de détection par microscopie électronique des fibrilles associées à la tremblante (*Scrapie Associated Fibrils*, SAFs), et un test immunohistochimique, détectant des amas de PrP^{res} par réaction immunoenzymatique [Vanopdenbosch *et al.*, 1998].

3. METHODE

Compte tenu de la difficulté de mise en œuvre des bio-essais sur souris (test de référence repris dans la définition de la sensibilité), du nombre d'éléments encore inconnus concernant la pathogénie de l'ESB [Wells *et al.*, 1998 ; European Commission, 2000 et 2002 ; Terry *et al.*, 2003], et de la faible prévalence apparente de cette zoonose [Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne

alimentaire, 2005], certains problèmes méthodologiques se sont posés lors de l'estimation de la prévalence réelle de l'ESB. La méthode utilisée doit en effet être capable de simuler les données manquantes, tout en étant robuste et puissante, et pouvoir tenir compte d'hypothèses non encore confirmées avant l'aboutissement de l'étude de pathogénie VLA SE1736 [Autorité européenne de sécurité alimentaire, 2005]. Ainsi, le choix de la méthode s'est orienté vers une modélisation Bayésienne. L'intérêt de l'utilisation de cette méthode est qu'un maximum d'information peut être utilisé, de façon totalement transparente, ce qui rend le résultat plus puissant; qu'elle permet la résolution de problèmes complexes; et que le résultat obtenu est clair et utile, ce qui le rend précieux dans l'aide à la prise de décisions [Box et Tao,

1973; Gelman *et al.*, 1995; Dorny *et al.*, 2004].

La distribution *a priori* a été constituée grâce à l'opinion d'experts. L'information *a priori* a été intégrée dans le modèle selon des distributions uniformes qui tiennent compte des bornes inférieures et supérieures représentant les opinions d'experts. Le maximum de vraisemblance a été obtenu grâce aux données concernant les populations testées. Un modèle Bayésien a simulé la distribution *a posteriori* par échantillonnage de Gibbs, en utilisant le logiciel Winbugs 1.4[®] [Spiegelhalter *et al.*, 2003]. L'ajustement du modèle par rapport aux données a été examiné [Gelman *et al.*, 1995; Spiegelhalter *et al.*, 2003], ainsi que sa sensibilité par rapport aux modifications dans les assumptions *a priori*.

III – RESULTATS

Le modèle a été mis à l'épreuve dans différentes situations, comme par exemple l'utilisation de données *a priori* non informatives. Les résultats se sont avérés robustes.

L'ordre de grandeur du taux de prévalence réelle de l'ESB en Belgique en 2002 et 2003 a été estimé à 10^{-5} , dans un intervalle de crédibilité (IC) allant d'un ordre de grandeur de 10^{-7} à 10^{-5} (Figure 1).

Les spécificité et sensibilité du test rapide ont également été estimées. La spécificité diagnostique est de 99,99 % [IC : 99,99 – 100 %], elle est donc supérieure à la spécificité annoncée lors de la mise au point du test (figure 1). La sensibilité du test rapide est par contre inférieure à celle annoncée précédemment. En effet, elle a été estimée à 91,23 % [IC : 81,69 - 91,64 %] (figure 1).

IV - DISCUSSION ET PERSPECTIVES

Même s'il s'agit d'une étude préliminaire, le modèle bayésien utilisé, pour estimer la prévalence réelle de l'ESB et les valeurs de sensibilité et spécificité du test rapide, a été robuste aux altérations qui lui ont été imposées et des conclusions ont pu en être tirées.

La prévalence réelle estimée est du même ordre de grandeur que la prévalence apparente, mais l'intervalle de crédibilité concernant la valeur de la prévalence réelle est très large.

La spécificité diagnostique du test rapide est supérieure à la spécificité initialement déterminée lors de la validation du test. Concernant la spécificité, un grand soin doit être apporté à l'incubation des tissus lors de la

digestion par la protéinase K. En effet, une incubation incorrecte est susceptible d'induire des réactions aspécifiques.

La sensibilité diagnostique estimée est inférieure à la sensibilité initialement déterminée sur animaux cliniquement infectés lors de la validation du test. Cette baisse de sensibilité significative est susceptible d'induire un problème de santé publique. En effet, des animaux atteints d'ESB risquent d'entrer dans la chaîne alimentaire s'ils ne sont pas identifiés comme positifs par le test utilisé. Dès lors, le retrait des matériaux à risques spécifiés et toutes autres mesures de protection de la santé publique revêtent une importance particulière dans la prévention de la transmission de cette zoonose [Commission

Européenne, 1997 ; Anonyme, 2001 ; European Commission 2002]. L'assouplissement de ces mesures complémentaires pourrait être lourd de conséquences [Autorité

européenne de sécurité alimentaire, 2005]. Bien plus qu'un assouplissement, il faudrait plutôt prôner leur renforcement.

Figure 1

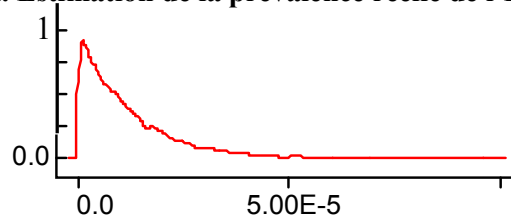
Distribution de densités des estimations de (a) la prévalence réelle de l'encéphalopathie spongiforme bovine en 2002 et 2003, (b) la sensibilité du test rapide et (c) la spécificité du test rapide suite à la modélisation bayésienne.

Légende : a. L'ordre de grandeur du taux de prévalence réelle de l'ESB en Belgique durant les années 2002 et 2003 a été estimé à 10^{-5} , dans un intervalle de crédibilité (IC) allant d'un ordre de grandeur de 10^{-7} à 10^{-5} .

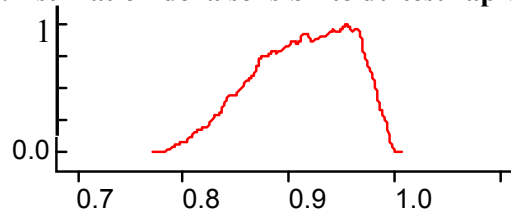
b. La sensibilité du test rapide est estimée à 91,23 % [IC : 81,69 - 91,64 %].

c. La spécificité du test rapide se situe à 99,99 % [IC : 99,99 – 100 %].

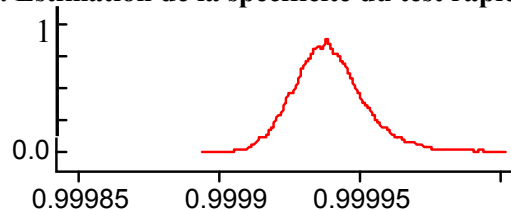
a. Estimation de la prévalence réelle de l'ESB



b. Estimation de la sensibilité du test rapide



c. Estimation de la spécificité du test rapide



La sensibilité du test rapide devrait toutefois encore être estimée avec plus de précision. Pour ce faire, une meilleure connaissance de la pathogénie de l'ESB est indispensable. Les estimations proposées dans ce travail pourront être confrontées aux résultats de l'étude de pathogénie VLA SE1736 [Autorité européenne de sécurité alimentaire, 2005]. De plus, grâce

au choix de la définition d'un cas réellement infecté d'ESB, les hypothèses émises pourraient être confirmées lors d'une étude *in vivo* sur souris manipulées génétiquement. La construction de nouveaux modèles serait également un moyen d'obtenir des résultats plus précis.

Par ailleurs, lors de l'utilisation de ce premier modèle, il faut tenir compte de l'existence du biais lié à l'hétérogénéité de la population testée. Celle-ci est en effet composée d'animaux provenant du clos d'équarrissage, de l'abattoir, ou suspects cliniquement d'ESB [Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire, 2005]. Ces animaux, s'ils sont atteints d'ESB, sont susceptibles d'être à des phases différentes de leur période d'incubation. Or, le niveau de détection et de sensibilité du test rapide sont variables en fonction du stade d'incubation de l'animal [Arnold et Wilesmith, 2003]. Les estimations

réalisées devraient donc être confirmées par des études séparées de chaque sous-population d'animaux soumis aux tests de mise en évidence la PrP^{res} dans le SNC.

Cette étude met donc en exergue l'importance de l'analyse critique des valeurs de prévalence apparente, ainsi que de sensibilité et spécificité du test rapide, pour une zoonose telle que l'ESB. Cependant, malgré la construction d'un modèle robuste, des investigations supplémentaires sont nécessaires afin de rendre plus précises les estimations obtenues.

BIBLIOGRAPHIE

- Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire - [en ligne] (sans date) Adresse URL : <http://www.favv-afsc.fgov.be>. Consulté le 28/09/05.
- Anonyme. - Arrêté royal modifiant l'arrêté royal du 17 mars 1997 organisant la surveillance épidémiologique des encéphalopathies spongiformes transmissibles des ruminants. *Moniteur belge*, 2001.
- Arnold M., Wilesmith J. - Modelling studies on bovine spongiform encephalopathy occurrence to assist in the review of the over 30 months rule in Great Britain. *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, 2003, **270**, 2141-2145.
- Autorité européenne de sécurité alimentaire - [en ligne] (sans date) Adresse URL : http://www.efsa.eu.int/science/biohaz/biohaz_opinions/opinion_annexes/934_en.html Consulté le 28/09/05.
- Box G.E.P., Tao D.R. ~ Bayesian Inference in Statistical Analysis. Reading, MA, Addison-Wesley, 1973.
- Bruce M.E., Will R.G., Ironside J.W., McConnell I., Drummond D., Suttie A., McCardle L., Chree A., Hope J., Birkett C., Cousens S., Fraser H., Bostock C.J. - Transmissions to mice indicate that 'new variant' CJD is caused by the BSE agent. *Nature*, 1997, **389**, 498-501.
- Commission européenne. - Décision (CE) n° 97/534 de la Commission du 30 juillet 1997 relative à l'interdiction de l'utilisation de matériels présentant des risques au regard des encéphalopathies spongiformes transmissibles. *J. Off. Comm. Eur.*, 1997, **L216**, 95-98.
- Commission européenne - Règlement (CE) n° 2777/2000 de la Commission du 18 décembre 2000 arrêtant des mesures de soutien exceptionnelles en faveur du marché de la viande bovine. *J. Off. Comm. Eur.*, 2000, **L321**, 47-51.
- Dorny P., Phiri I.K., Vercruyse J., Gabriel S., Willingham A.L., Brandt J., Victor B., Speybroeck N., Berkvens D. - A Bayesian approach for estimating values for prevalence and diagnostic test characteristics of porcine cysticercosis. *Int.J.Parasitol.* 2004, **34**, 569-576.
- European Commission. - Preliminary opinion on the oral exposure of humans to the BSE agent: infective dose and species barrier, adopted by the Scientific Steering Committee at its meeting of 2-3 March 2000. European Commission, Scientific Steering Committee, Health and Consumer Protection Directorate General, Brussels, 2000, 53p.
- European Commission. - Update on the opinion on TSE infectivity distribution in ruminant tissues. European Commission, Scientific Steering Committee, Health and Consumer Protection Directorate General, Brussels, 2002, 53p.
- Gelman A., Carlin J. B., Stern H. S., Rubin D. B. - Bayesian Data Analysis, Chapman & Hall, London, 1995.
- Grassi J., Comoy E., Simon S., Creminon C., Frobert Y., Trapmann S., Schimmel H., Hawkins S. A., Moynagh J., Deslys J. P., Wells G. A. - Rapid test for the preclinical

- post-mortem diagnosis of BSE in central nervous system tissue. *Vet. Rec.*, 2001, **149**, 577-582.
- Hill A.F., Desbrusbaïs M., Joiner S., Sidle K.C.L., Gowland J., Collinge L., Doey L.J., Lantos P. - The same prion strain causes vCJD and BSE. *Nature*, 1997, **389**, 448-450.
- Kimberlin R.H. - Bovine spongiform encephalopathy. *Rev. sci. techn. Off. Int. Epiz.*, 1992, **11**, 347-390.
- Lasmezas C. - I. The transmissible spongiform encephalopathies. *Rev.Sci.Tech.*, 2003, **22**, 23-36.
- Moynagh J., Schimmel H. - Tests for BSE evaluated. Bovine spongiform encephalopathy. *Nature*, 1999, 409, 105.
- Pan K.M., Baldwin M., Nguyen J., Gasset M., Serban A., Groth D., Mehlhorn I., Huang Z., Fletterick R.J., Cohen F.E., Prusiner S.B. - Conversion of α -helices into β -sheets features in the formation of the scrapie prion proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993, **90**, 10962-10966.
- Parlement européen, Conseil européen - Règlement (CE) n° 999/2001 du Parlement européen et du Conseil du 22 mai 2001 fixant les règles pour la prévention, le contrôle et l'éradication de certaines encéphalopathies spongiformes transmissibles. *J. Off. Comm. Eur.*, 2001, **L147**, 1-40.
- Pastoret P.-P., Gouffaux M., Saegerman C., Roels S., Dechamps P., Thiry E., Vanopdenbosch E. - Le diagnostic immunologique rapide des encéphalopathies spongiformes transmissibles. *Ann. Méd. Vét.*, 2001, **145**, 164-173.
- Prusiner S. B. - Prions. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.*, 1998, **95**, 13363-13383.
- Roels S., De Bosschere H., Saegerman C., Deschamps P., Vanopdenbosch E. - Surveillance and testing in Belgium. *New Food*, 2004, **104**, 36-40.
- Saegerman C., Berkvens D., Claes L., Dewaele A., Coignoul F., Ducatelle R., Cassart D., Rochier B., Costy F., Roels S., Deluyker E., Vanopdenbosch E., Thiry E. - Population-level retrospective study of neurologically expressed disorders in ruminants before the onset of bovine spongiform encephalopathy (BSE) in Belgium, a geographic BSE risk III country. *J.Clin.Microbiol.*, 2005a, **43**, 862-869.
- Saegerman C., Claes L., Dewaele A., Desmecht D., Rollin F., Hamoir J., Gustin P., Czaplicki G., Bughin J., Wullepit J., Laureyns J., Roels S., Berkvens D., Vanopdenbosch E., Thiry E. - Differential diagnosis of neurologically expressed disorders in Western European cattle. In Risk analysis of prion diseases in animals (special issue). *Rev. Sc. Tech. O.I.E.*, 2003, **22 (1)**, 83-102.
- Saegerman C., Dechamps P., Roels S., Petroff K., Geeroms R., Torck G., Dufey J., Fourez R., Hamelryckx M., Cormann A., Viatour P., De Coninck V., Lomba F., Vermeersch J.-P., Hallet L., Lhost O., Leemans M., Vandersanden A., Peharpre D., Brochier B., Costy F., Pastoret P.-P., Thiry E., Vanopdenbosch E. - Epidémiologie de l'encéphalopathie spongiforme bovine en Belgique : bilan de l'année 1999. *Ann. Méd. Vét.*, 2001, **145**, 47-58.
- Saegerman C., Speybroeck N., Roels S., Vanopdenbosch E., Thiry E., Berkvens D. - Decision support tools for clinical diagnosis of disease in cows with suspected bovine spongiform encephalopathy. *J.Clin.Microbiol.*, 2004, **42**, 172-178.
- Saegerman C., Speybroeck N., Vanopdenbosch E., Wilesmith J., Vereecken K., Berkvens D. - Evolution de l'âge moyen lors de la détection des bovins atteints d'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) : un indicateur du stade de la courbe épidémique d'un pays. *Epidémiol. et santé anim.*, 2005b, **47**, 123-139.
- Schaller O., Fatzer R., Stack M., Clark J., Cooley W., Biffiger K., Egli S., Doherr M., Vandeveld M., Heim D., Oesch B., Moser M. - Validation of a Western immunoblotting procedure for bovine PrP^{Sc} detection and its use as a rapid surveillance method for the diagnosis of bovine spongiform encephalopathy (BSE). *Acta Neuropathol.*, 1999, **98**, 437-443.
- Scott M.R., Will R., Ironside J., Nguyen H.-O.B., Tremblay P., Dearmond S.J., Prusiner S. - Compelling transgenic evidence for transmission of bovine spongiform encephalopathy prions to humans. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, 1999, **96**, 15137-15142.
- Spiegelhalter D.J., Thomas A., Best N.D., Lunn D. - Winbugs version 1.4. Users manual,

2003. MRC Biostatistics unit, Cambridge.
URL : www.mrc-bsu.cam.ac.uk/bugs.
- Terry L.A, Marsch S., Ryder S.J., Hawkins S.A.C., Wells A.H., Spencer Y.I. - Detection of disease-specific PrP in the distal ileum of cattle exposed orally to the agent of bovine spongiform encephalopathy. *Vet. Rec.*, 2003, **152**, 387-392.
- Thiry E., Saegerman C., Xambeu L., Penders J. - Current status of transmissible spongiform encephalopathies in ruminants. *Biotechnol.Agron.Soc.Environ.* 2004, **8**, 221-228.
- Trevitt C. R., Singh P. N.. *Am.J.Clin.Nutr.* 2003, **78**, 651-656.
- Vanopdenbosch E., Dechamps P., Dufey J., Saegerman C., Roels S.T., Mullier P., Hallet L., Brochier B., Costy F., Charlier G., Fourez R., Pastoret P-P. - Le premier cas d'encéphalopathie spongiforme bovine diagnostiqué en Belgique. *Ann. Méd. Vét.*, 1998, **142**, 111-118.
- Wells G.A., Hawkins S.A., Green R.B., Austin A.R., Dexter I., Spencer Y.I., Chaplin M.J., Stack M.J., Dawson M. - Preliminary observations on the pathogenesis of experimental bovine spongiform encephalopathy (BSE): an update. *Vet. Rec.* 1998, **142**, 103-106.



Remerciements

Nous remercions tous les membres de l'Agence fédérale belge pour la sécurité de la chaîne alimentaire (AFSCA), le personnel du Centre d'étude et de recherches vétérinaires et agrochimiques (CERVA) et des laboratoires de diagnostic privés qui ont collaboré activement à cette étude. Nous remercions également P. Vanthemsche (AFSCA) et J.- M. Robijns (AFSCA) pour l'accès aux données et T. Marcotty (Institut de médecine tropicale) pour les conseils judicieux prodigués. Les membres ayant pris part à l'opinion d'experts étaient les suivants : M. Gouffaux, P. Dechamps et J. Dufey (AFSCA) ; E. Vanopdenbosch, S. Roels et H. Debosschere (CERVA) ; E. Heinen, C. Saegerman et E. Thiry (Université de Liège) ; L. De Zutter (Université de Gant) ; D. Berkvens (Institut de médecine tropicale) ; G. Bertels (Dierengezondheidszorg, Vlaanderen) et D. Debecker (Bio-Rad).