

Epidémiosurveillance de l'encéphalopathie spongiforme bovine en Belgique : bilan de l'année 1999

SAEGERMAN C.¹, DECHAMPS P.¹, ROELS S.³, PETROFF K.³,
GEEROMS R.³, TORCK G.⁴, DUFEY J.¹, FOUREZ R.², HAMELRYCKX M.²,
CORMANN A.¹, VIATOUR P.¹, DE CONINCK V.¹, LOMBA F.¹,
VERMEERSCH J-P.¹, HALLET L.¹, LHOST O.², LEEMANS M.², VANDERSANDEN A.²,
PEHARPRE D.⁵, BROCHIER B.⁵, COSTY F.⁵, PASTORET P-P.⁶, THIRY E.⁶,
VANOPDENBOSCH E.³

¹ Ministère des Classes Moyennes et de l'Agriculture, Administration de la Santé animale et de la Qualité des produits animaux (DG5), Services vétérinaires,

² Administration de la Qualité des matières premières et du secteur végétal (DG4), Matières premières et produits transformés, 30 Boulevard Simon Bolivar - B-1000 Bruxelles, Belgique

³ Centre d'Etude et de Recherches Vétérinaires et Agrochimiques,

⁴ Association centrale de Santé animale, 99 Groeselenberg - B-1180 Bruxelles, Belgique

⁵ Ministère des affaires sociales, de la Santé publique et de l'environnement, Institut Pasteur de Bruxelles - Service de la Rage, 642 rue Engeland - B-1180 Bruxelles, Belgique

⁶ Services d'Immunologie-Vaccinologie et de Virologie-Epidémiologie, Département des maladies infectieuses et parasitaires, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Liège, B-43b Sart Tilman - B-4000 Liège, Belgique

Correspondance : claudesaegerman@cmlag.fgov.be

RESUME : En 1999, 201 bovins présentant des troubles neurologiques et 203 bovins ne présentant pas de troubles neurologiques ont été analysés en vue de la détection de l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB). Durant la même année, l'ESB a été diagnostiquée chez 3 bovins âgés respectivement de 108, 66 et 73 mois dans les provinces de Liège (cas 99/1), de Hainaut (cas 99/2) et de Namur (cas 99/3). Les hypothèses suggérées à ce jour concernant l'origine de ces cas sont : l'utilisation de farines animales dans les aliments composés pour bovins avant la date de leur interdiction (27/7/1994) et la contamination possible des aliments composés pour animaux polygastriques par des aliments composés pour animaux monogastriques contenant des farines animales, lors des processus de fabrication, de stockage, de transport ou de distribution.

INTRODUCTION

En 1999, le nombre de cas déclarés d'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) a continué à décroître au Royaume-Uni et à augmenter sensiblement en France, en Irlande et au Portugal. Par ailleurs, la France a déclaré, en supplément de 30 cas indigènes, un premier cas d'ESB sur

un bovin importé de Suisse (Office international des épizooties, 1999). La Suisse a mis en application un programme de surveillance active, baptisé " UP1999 ". Les résultats de ce dépistage utilisant le PRIONICS-Check[®] test ont permis de démontrer que les animaux possédant le prion PrP^{sc}, marqueur de la contamination de l'ESB, appartenaient à des popula-

tions plus diverses qu'on ne le pensait jusqu'à présent (Doherr et al., 1999; Schaller et al., 1999). Ainsi, la PrP^{sc} a été retrouvée chez des bovins morts ou tués (16 cas sur 7176) et chez d'autres animaux abattus en urgence pour des raisons diverses (6 cas sur 3578). Elle peut aussi être présente chez des animaux apparemment sains et conduits à l'abattoir (3 cas sur

7138). Le nombre total de cas détectés par ce programme de surveillance active est aussi important que celui du programme de surveillance passive qui concerne les suspicions cliniques (Office vétérinaire fédéral, 1999b). Il a également été constaté que le nombre de suspicions cliniques a augmenté suite à l'instauration du programme de surveillance active. Il y a donc une interaction entre ces deux types de surveillance.

L'année 1999 a également été marquée par l'analyse du risque géographique de l'ESB par pays, initiée par le Comité scientifique directeur de l'Union européenne (opinion à propos du risque géographique de l'ESB, adoptée le 6 juillet 2000). Le risque géographique d'ESB est un indicateur qualitatif du risque de contamination des bovins vivants par l'agent de l'ESB dans une région donnée (risque d'introduction et de dissémination). Il n'est pas un indicateur du risque pour la santé humaine causé par la consommation de denrées alimentaires. En effet, le risque pour la santé humaine dépend également des mesures prises en ce qui concerne la gestion des risques; par exemple, l'obligation d'incinérer les bovins atteints d'ESB et l'exclusion des matériels à risques spécifiés (MRS) (en application en Belgique depuis février 1998 et qui est obligatoire dans toute l'Union européenne à partir du premier octobre 2000) (Anonyme, 2000b). Au terme de leur travail d'évaluation, les experts de la Commission européenne ont établi un classement en 4 groupes, des 23 pays ayant déposé un dossier : le groupe I correspond à un risque d'ESB hautement improbable (Norvège, Argentine, Australie, Chili, Nouvelle-Zélande et Paraguay); le groupe II correspond à un risque d'ESB improbable mais ne pouvant être exclu (Autriche, Finlande, Suède, Canada et Etats-Unis), le groupe III correspond à un risque d'ESB probable mais non confirmé ou confirmé à un faible niveau (Allemagne, Belgique, Danemark, Espagne, France, Irlande, Italie, Luxembourg, Pays-Bas et Suisse) et le groupe IV correspond à un risque confirmé à un niveau élevé (Royaume-Uni et Portugal). La Grèce qui n'a pas introduit de dossier en 1999 a été classée dans le groupe IV. La majorité des Etats membres ont été exposés à des degrés divers au

risque de transmission de l'agent de l'ESB dans les troupeaux bovins. Toutefois, le risque géographique a eu tendance à se stabiliser ou à diminuer dans tous les pays où des cas d'ESB se sont déjà produits depuis 1994 (décision 94/381/CE de la Commission interdisant l'utilisation de protéines dérivées de tissus de mammifères dans l'alimentation des ruminants) ou 1996 (décision 96/449/CE de la Commission, abrogée et remplacée par la décision 1999/534/CE qui impose les conditions de traitement des matières à haut risque et décision 97/735/CE de la Commission relative à des mesures de protection en ce qui concerne les échanges de certains types de déchets animaux de mammifères). La Suisse qui a constaté un nombre non négligeable de cas d'ESB mais qui a développé une dynamique d'évaluation des risques et de maîtrise de ceux-ci se trouve dans le groupe III. Cette maîtrise des risques concerne : la mise en oeuvre précoce de mesures (interdiction de l'utilisation de farines animales dans l'alimentation des ruminants depuis le 1er décembre 1990, retrait de la consommation humaine des organes à risque dès novembre 1990, renforcement des dispositions sur la fabrication et l'importation d'aliments pour animaux dès mai 1996) ainsi que la mise en place d'une épidémiosurveillance adaptée et l'instauration d'une épidémiovigilance.

En Belgique, l'ESB est une maladie à déclaration obligatoire depuis le 18 septembre 1990. La mise en place d'un réseau d'épidémiosurveillance (Brochier et al., 1992) a permis de diagnostiquer le premier cas d'ESB en octobre 1997 (Vanopdenbosch et al., 1998) et 6 autres cas en 1998 (Saegeman et al., 1999b).

Cet article rapporte les résultats des enquêtes épidémiologiques et alimentaires réalisées à propos des 3 cas d'ESB déclarés en 1999 et dresse le bilan du réseau d'épidémiosurveillance pour cette année.

MATERIELS ET METHODES

Bases de données informatiques

Les bases de données de l'Institut Pasteur de Bruxelles (IPB) concernant le diagnostic de la rage et du Centre d'Etude et de Recherches Vétérinaires et Agrochimiques

(CERVA) concernant le diagnostic des encéphalopathies spongiformes transmissibles (EST) ont été consultées. Elles contiennent des informations sur les cas soumis à l'examen : numéro de référence, date d'introduction du prélèvement, motif d'analyse, localisation et identification du cas, espèce, sexe, âge des animaux, les résultats des analyses effectuées et la date de leur notification.

Fiches cliniques d'évaluation

Les fiches cliniques d'évaluation rédigées par les inspecteurs vétérinaires du Ministère des Classes Moyennes et de l'Agriculture lors de toute suspicion d'ESB ont été consultées.

Enquêtes épidémiologiques et alimentaires

Lors de confirmation d'ESB, des enquêtes épidémiologiques et alimentaires sont menées selon un protocole préétabli, respectivement par l'Inspection Générale des Services Vétérinaires (DG V - Ministère fédéral des Classes Moyennes et de l'Agriculture) et par l'Inspection Générale des matières premières et produits transformés (DG IV - Ministère fédéral des Classes Moyennes et de l'Agriculture). Les enquêtes concernant les 3 cas d'ESB ont été analysées. Les numéros d'identification Sanitel des troupeaux et bovins atteints d'ESB ainsi que l'identification des aliments incriminés ne sont pas précisés ici afin de respecter l'anonymat des détenteurs et firmes d'aliments concernées.

Population cible

La population bovine cible est constituée par les 1.571.563 bovins, âgés de 2 ans et plus, appartenant au cheptel belge (tableau I). Leur nombre a été extrait de la base de données Sanitel-bovins dans laquelle ils sont enregistrés.

Bovins suspects et atteints d'encéphalopathie spongiforme bovine

Les définitions sont reprises dans l'Arrêté Royal du 17 mars 1997 organisant la surveillance épidémiologique des encéphalopathies spongiformes transmissibles chez les rumi-

Tableau I : Nombre de troupeaux, de bovins vivants et de bovins analysés mensuellement pour l'ESB, par province en Belgique, année 1999

Province	Troupeaux*	Bovins vivants			Position par rapport au sillon Sambre et Meuse	Nombre de bovins analysés mensuellement pour l'ESB												Total annuel provincial (nombre)	Total annuel provincial (%)	
		Nombre	>= 2 ans			Total Nombre	Janvier	Février	Mars	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Novembre			Décembre
			Nombre	%																
ANVERS	5 492	140 999	8,97	250 047	N	1	2	1	1		3							2	10	5,0
BRABANT FLAMAND	3 964	70 142	4,46	133 391	N			1			1							1	3	1,5
BRABANT WALLON	953	35 803	2,28	69 611	N	1			3	1	4								9	4,5
FLANDRE OCCIDENTALE	9 546	261 857	16,66	492 340	N			1	3	3	2	3				2	1		15	7,5
FLANDRE ORIENTALE	10 986	214 109	13,62	409 383	N	2	5	4	2	3	2	1	2		2	1	2	26	12,9	
HAINAUT	5 249	216 132	13,75	394 324	N	3		3		2							3	18	9,0	
					S	1		1			1	1		1		1				
LIEGE	4 871	179 067	11,39	312 248	N					1	1							20	10,0	
					S	1	3	2	3	6	1	1	1			2	1			
LIMBOURG	4 049	84 103	5,35	154 739	N	3	1	5	1								2	15	7,5	
LUXEMBOURG	3 655	217 145	13,82	406 386	S	5	8	2	7	12	5	4	2	2		7	3	57	28,4	
NAMUR	3 011	152 206	9,69	290 246	S	4	2	2	5	5	1			1		3	5	28	13,9	
BELGIQUE	51 776	1 571 563	100,00	2 912 715	Total %	21	21	22	25	33	22	10	5	4	4	15	19	201	100,0	
Position par rapport au sillon Sambre et Meuse :																				
Partie Nord	ND	ND	ND	ND	Total	10	8	15	10	9	14	5	3	0	4	2	10	116	57,7	
Partie Sud	ND	ND	ND	ND	Total	11	13	7	15	23	8	5	2	4	0	13	9	85	42,3	
Communes traversées par le sillon Sambre et Meuse	ND	ND	ND	ND	Total	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0,0	

* sans les stations d'engraissement de veaux

- N : partie Nord

- S : partie Sud

- T : communes traversées par le sillon

- ND : non déterminé

nants (moniteur belge du 3 avril 1997).

Un ruminant suspect d'ESB est un ruminant qui vivant, abattu ou mort présente des symptômes ou des lésions du système nerveux central ne pouvant être rapportés de façon certaine à une autre origine.

Un ruminant atteint d'ESB est un ruminant qui, après sa mort ou son abattage, présente dans l'encéphale des lésions caractéristiques confirmant l'origine de la maladie; l'examen histopathologique démontrant l'aspect spongiforme, l'extraction et l'examen des fibrilles associées à la scrapie ou examen SAF (Scrapie Associated Fibrils) ainsi que l'immunocytochimie sont effectués par le CERVA, selon les méthodes décrites antérieurement (Vanopdenbosch et al., 1998).

Mode de recrutement des cas suspects d'encéphalopathie spongiforme bovine

Les réseaux d'épidémiosurveillance de la rage et des EST sont partiellement liés : les animaux suspects de rage, pour lesquels la rage a été exclue, subissent un diagnostic d'EST en fonction de leur âge. Cet âge est différent en fonction de l'espèce : supérieur à 12 mois pour les

ruminants (petits et grands) et indéterminé pour les autres espèces (ruminants sauvages et chats). L'encéphale de tous les animaux suspects d'EST est préalablement analysé pour la rage.

Le nombre d'encéphales examinés dans le réseau d'épidémiosurveillance belge de l'ESB en 1999 concerne 203 bovins d'abattage cliniquement sains et 201 bovins ayant présenté des troubles neurologiques centraux (dont 69 identifiés à l'abattoir par les experts de l'Institut d'expertise vétérinaire); 484 bovins cliniquement sains, issus des troupeaux atteints d'ESB; 173 ovins et caprins répartis comme suit : 24 ovins (dont un à l'abattoir) et 5 caprins ayant présenté des troubles neurologiques; 37 ovins cliniquement sains, issus d'un troupeau atteint de tremblante; 8 ovins et caprins cliniquement sains, issus du troupeau atteint d'ESB 99/1; 99 ovins testés dans le cadre de l'attribution d'un statut avant exportation; 4 chevreuils, 1 daim, 1 renard et 53 chats ayant présenté des troubles neurologiques centraux.

Test rapide Prionics-check®

Entre le 9/3/1999 et le 26/5/1999, 203 encéphales de bovins d'abattage

belges ont été analysés dans le land de Nordrhein-Westfalen avec le Prionics-check® test (Prionics AG, Suisse) dans le cadre d'un projet pilote (Anonyme, 2000c). La technique de western blot utilisée dans le test a été décrite antérieurement (Schaller et al., 1999).

Identification et estimation des constituants d'origine animale dans les aliments pour animaux

L'identification et l'estimation de la quantité de constituants d'origine animale pour le contrôle officiel des aliments pour animaux ont été réalisés par examen microscopique. La technique est décrite dans l'annexe de la directive 98/88/CE (Anonyme, 1998b). Une limite de quantification a été fixée à 0,3 % de protéines animales (Miller et al., 1988).

Taux d'incidence annuelle

Le taux d'incidence troupeaux est le quotient du nombre de troupeaux atteints d'ESB par le nombre de troupeaux détenant des bovins.

Le taux d'incidence intra-troupeaux est le quotient, exprimé en pour-cent, du nombre de bovins atteints d'ESB par le nombre de bovins présents dans les troupeaux atteints d'ESB.

Le taux standardisé d'incidence annuelle bovins est le quotient du nombre de bovins atteints d'ESB par le cheptel bovin âgé de 2 ans et plus exprimé en millions de têtes.

Analyse statistique

Le test du Chi carré de Pearson utilisé (Chi 2) est un test statistique de relation entre deux variables qualitatives (Toma et al., 1991). Le coefficient de corrélation des rangs de Spearman permet de tester la liaison entre deux caractères quantitatifs (Schwartz, 1991).

Cadre légal en vigueur

L'Arrêté Royal du 17/3/1997, organisant la surveillance épidémiologique des EST chez les ruminants, précise les mesures à prendre (Saegerman et al., 1999b).

RESULTATS

Bovins d'abattage sains

203 bovins d'abattage belges ont été analysés en Allemagne par le test Prionics-check® entre le 9/3/1999 et le 26/5/1999 (land de Nordrhein-Westfalen). Tous les résultats des analyses ont été négatifs. Les numéros SANITEL ont été fournis, par les services vétérinaires allemands, pour 91 bovins. Ces bovins étaient âgés de 11 à 96 mois (moyenne et médiane : 37 mois; 25^e percentile : 28 mois et 75^e percentile : 40 mois). Les troupeaux d'origine se situaient dans toutes les provinces sauf celle du Luxembourg avec une prédominance pour la province de Liège qui est limitrophe.

Bovins suspects d'ESB

Les 201 bovins analysés ayant présenté des troubles neurologiques centraux ont été recrutés pour suspicion de rage (45 cas) et d'ESB (156 cas). Les suspicions cliniques d'ESB avaient pour origine la mise en évidence de troubles neurologiques centraux chez des bovins âgés de plus de 20 mois dans des exploitations (87 cas; âge médian : 48 mois) ou à l'abattoir de bovins moribonds, en décubitus abandonné, sans attestation sanitaire (absence du document IEV20), avec des mentions reprises sur l'attestation sanitaire ne correspondant pas au résultat de l'examen ante-mortem ou

arrivés morts sans anamnèse (69 cas; âge médian : 50 mois). Toutes les suspicions de rage ont été analysées pour l'ESB; 1 suspicion d'ESB seulement n'a pas été analysée pour la rage.

Distributions spatiale et temporelle des cas suspects d'ESB

Bien qu'un seul bovin enrégé ait été détecté en 1999 au sud du sillon Sambre et Meuse (Brochier et al., 2000), la distribution des encéphales examinés de part et d'autre de ce sillon demeure une information pertinente. En effet, le niveau de vigilance des détenteurs et des vétérinaires est historiquement plus élevé au sud de ce sillon puisque la rage était localisée dans cette partie du pays.

Les cas suspects ont été analysés durant tous les mois de l'année quelle que soit leur position par rapport au sillon Sambre et Meuse (tableau I).

La localisation spatiale des 201 encéphales de bovins ayant présenté des troubles neurologiques centraux et

de troupeaux actifs présents dans chaque province (Chi 2; $P < 10^{-6}$), cette répartition est significativement différente entre les provinces (tableau I).

Distribution des cas suspects d'encéphalopathie spongiforme bovine en fonction de l'âge des animaux

Les 201 bovins analysés étaient âgés respectivement de moins de 12 mois (3 cas; âge médian: 8 mois), de 12 à 19 mois (14 cas; âge médian: 17 mois), de 20 à 23 mois (6 cas; âge médian: 21 mois) et 24 mois et plus (178 cas; âge médian : 49 mois, 25^e percentile : 36 mois, 75^e percentile : 73 mois).

Résultats des analyses de laboratoire sur cerveaux provenant des exploitations suspectes d'encéphalopathie spongiforme bovine

Pour les exploitations négatives envers l'ESB, les examens histopathologiques, SAF et immunocytochimiques effectués en vue du diagnostic de l'ESB ont été négatifs pour tous les encéphales

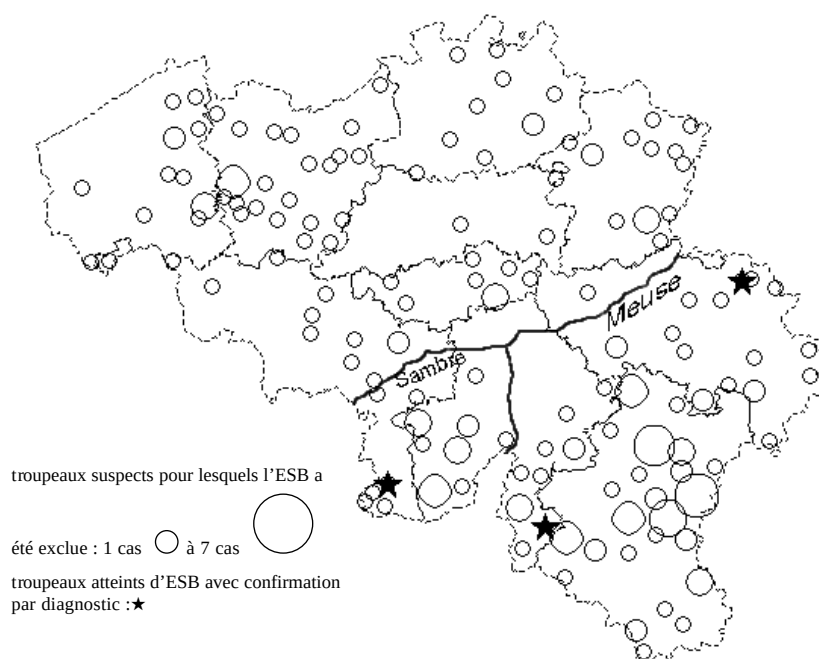


Figure 1 : Distribution géographique des 201 bovins, présentant des troubles neurologiques, examinés en vue du diagnostic de l'ESB en Belgique, année 1999.

analysés pour l'ESB durant l'année 1999 est reprise à la figure 1. Les différents cas suspects ont été recrutés à raison de 85 et 116 encéphales respectivement au nord et au sud du sillon Sambre et Meuse. Toutes les provinces ont contribué à ce résultat. Toutefois, rapportée à la population cible des bovins âgés de 2 ans et plus (Chi 2; $P < 10^{-6}$) ou au nombre

examinés provenant de 198 bovins (pour 6 encéphales en voie de putréfaction, seul le test d'immunocytochimie a été réalisé). Sur base de l'examen histopathologique, une orientation diagnostique a été posée pour 67 bovins. Ceux-ci ont présenté respectivement des lésions histopathologiques compatibles avec une listériose (41 bovins), une méningite et/ou une encéphalite puru-

lente (14 bovins), une encéphalite non purulente avec extension aux méninges (10 bovins), des lésions compatibles avec la rage (1 bovin) et un neuroblastome cérébelleux (1 bovin) (tableau II). Les lésions suggérant une listériose sont davantage rencontrées en hiver et au printemps (Chi 2; $P = 0,01$). Pour deux cas d'encéphalite non purulente, un diagnostic étiologique a été posé. Dans le premier cas (bovin âgé de 26 mois), il s'agissait d'infection par le virus de la diarrhée virale bovine (BVD) et dans le deuxième cas (bovin âgé de 44 mois), il s'agissait d'infection par le virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine (IBR).

TROUPEAUX ET BOVINS ATTEINTS D'ENCÉPHALOPATHIE SPONGIFORME BOVINE

Distributions spatiale et temporelle
En 1999, l'ESB a été diagnostiquée dans 3 troupeaux différents à raison d'une bête bovine par troupeau. Le cas 99/1 était localisé dans la province de Liège (commune de Lontzen; région agricole herbagère de Liège), le cas 99/2 était localisé dans la province de Hainaut (commune de Chimay; région agricole herbagère de Fagne) et le cas 99/3 dans la province de Namur (commune de Bièvre; région de l'Ardenne). La figure 1 reprend la localisation de l'ensemble des troupeaux atteints d'ESB en 1999. Ces trois cas ont été identifiés respectivement au cours des mois de mars, juin et septembre 1999.

Caractéristiques des troupeaux atteints

Des bovins laitiers étaient présents dans tous les troupeaux atteints d'ESB. Les éleveurs concernés ont tous eu recours à l'insémination artificielle et les troupeaux 99/1 et 99/2 au transfert d'embryon. Des autovaccins susceptibles d'avoir été cultivés sur un milieu BHI (Brain Heart Infusion) n'ont jamais été utilisés. La détention de porcs, en tant qu'activité professionnelle, a été constatée seulement dans le troupeau 99/3. La détention de volailles, en tant qu'activité professionnelle, n'a été constatée chez aucun de ces troupeaux. Par contre, la détention de 8 ovins et caprins a été constatée dans le troupeau d'origine 99/1 (ces animaux ont été testés négativement pour l'ESB et la tremblante). Dans les troupeaux 99/1 et 99/2,

Tableau II : Diagnostics histopathologiques posés sur les 198 encéphales pour lesquels le diagnostic d'ESB a été négatif, année 1999.

Diagnostic histopathologique	Nombre de bovins	Pourcentage du total (*)	Age médian en mois
Pas de lésions pathognomoniques	125	62	42
Listériose (*)	41	20	51
Méningite et/ou encéphalite purulente	14	7	50
(Méningo)-encéphalite non purulente (*)	10	5	33
Rage (*)	1	0,5	28 (**)
Neuroblastome cérébelleux	1	0,5	49 (**)
Putréfaction	6	3,0	39

(°) total : 201 bovins = 3 bovins atteints de BSE (1,5 %) + 198 autres bovins (98,5 %)

(*) périvasculite mixte au niveau du tronc cérébral (principalement des cellules mononucléées et un peu de neutrophiles) ; encéphalite mixte du tronc cérébral (cellules mononucléées et neutrophiles) avec parfois formation d'abcès et de nécrose du neuropile (avec astrocytose et microgliose) ; occasionnellement, une leptoméningite limitée mixte

(#) un diagnostic étiologique de BVD a été posé sur un animal âgé de 26 mois et un diagnostic étiologique d'IBR a été posé sur un animal de 44 mois (Roels et al., 2000)

(^*) un diagnostic étiologique de rage a été posé à l'aide du test d'immunofluorescence directe (Brochier et al, 2000)

(***) âge individuel

quelques animaux de compagnie étaient présents en plus des bovins.

Signes cliniques observés chez les bovins atteints d'encéphalopathie spongiforme bovine, conditions d'apparition et évolution

Les fiches d'évaluation rédigées pour les 3 cas d'ESB ont indiqué qu'au moment de la mise sous suspicion, des changements comportementaux (comportement anormal, réaction de panique, mouvements et port anormal des oreilles) étaient associés à des troubles locomoteurs (ataxie et tremblement) et à une altération de l'état général (perte de production lactée) (tableau III). Les signes cliniques précurseurs, décrits lors des enquêtes épidémiologiques, sont tenus avec une prédominance pour les changements comportementaux parfois insidieux (hypersensibilité au bruit, refus d'aller en salle de traite). Dans le cas 99/3, seul un amaigrissement a été constaté 6 semaines auparavant. Au moment de la mise sous suspicion, l'âge des bovins atteints d'ESB était respectivement de 108 mois (cas 99/1), 66 mois (cas 99/2) et 73 mois (cas 99/3). La durée d'évolution entre l'apparition des premiers signes cliniques et la mise sous suspicion est variable d'un troupeau à l'autre. Elle est respectivement de 39 jours (cas 99/1), 25 jours (cas 99/2) et 2 jours à 6 semaines si on tient compte du seul amaigrissement constaté (cas 99/3). L'intervalle de temps entre la naissance et l'expression des premiers signes cliniques est variable d'un animal à

l'autre et est respectivement de 107 mois (cas 99/1), 65 mois (cas 99/2) et 71 mois (cas 99/3).

Généalogie

Les 3 cas d'ESB sont des animaux issus de l'insémination artificielle. Les récoltes de sperme ont eu lieu dans des centres d'insémination artificielle agréés de Belgique et des Etats-Unis. Les ascendants directs du cas 99/1 n'ont pas pu être identifiés avec précision. Il s'agissait de bovins de race laitière. La généalogie ne permet pas d'établir de lien de parenté entre les cas 99/2 et 99/3. Les pères, de races Pie-Noire Holstein et Blanc-Bleu Belge, sont nés respectivement en août 1983 (cas 99/2) et novembre 1988 (cas 99/3). Les mères sont nées respectivement en septembre 1988 (cas 99/2) et juillet 1991 (cas 99/3). Dans le cas 99/2, la mère a été importée de France (département du Nord) en avril 1991.

Les mères ont été abattues respectivement 15 mois (cas 99/2) et 33 mois (cas 99/3) après la naissance des bovins atteints, sans jamais avoir présenté de signes cliniques d'ESB et ayant même vêlé une fois (cas 99/2) à deux fois (cas 99/3) entre-temps.

Suivi des origines et des destinations de tous les bovins

Hormis pour le cas 99/1, aucune importation de bovins n'a été enregistrée dans les deux autres troupeaux concernés (tableau IV) et aucun des 3

Tableau III : Données cliniques concernant les bovins atteints d'ESB en Belgique, année 1999

Année / numéro du cas Date de suspicion	99/1 26/03/99	99/2 14/06/99	99/3 18/11/99
1) Signalement :			
Sexe	F	F	F
Robe	Noire-Pie	Noire-Pie	Pie-Bleue
Spéculation	laitière	laitière	allaitante
Etat de production	en production	en production	tarie
Date de naissance	30/04/90	15/01/94	19/11/93
Origine	achat (veau de 3 semaines)	propre élevage*	propre élevage*
Age (mois)	108	66	73
2) Signes cliniques observés :			
a - Signes généraux :			
- perte de poids	+	-	+
- perte de condition générale	+	-	+
- perte de production lactée	+	+	Tarie
b - Changements comportementaux :	(vêlage d'un veau mort il y a 2 mois)	(1/3 de la production en 7 jours)	
- crainte	-	+	-
- hypersensibilité au toucher et au bruit	-	+	-
- excitation maniaque	+	+	-
- réaction de panique	+	+	+
- changement de tempérament	+	+	-
- port anormal de la tête	+	+	-
- mouvements et port anormal des oreilles	+	+	+
- comportement anormal	+	+	+
- aspect farouche de la tête	+	+	-
- léchage des flancs ou du nez	+	-	-
- ruade en salle de traite	-	+	-
- grincements des dents	-	-	+
c - Troubles neurologiques et/ou locomoteurs :			
- ataxie antérieure et/ou postérieure	+	+	+
- position couchée	+	-	-
- faiblesse des postérieurs	+	-	+
- tremblements	+	+	+
- autre(s)	-	dos voussé "marche sur des oeufs"	□
d - autre(s)	-	jetage séreux, salivation	□
3) Cinétique d'apparition des signes cliniques :			
a - Durée de la phase préclinique en mois	108	65	73□
b - Date des premiers signes cliniques	15/02/99	20/05/99	16/11/99□
c - Nombre de jours entre l'apparition des premiers signes cliniques et la mise sous suspicion :	39	25	2**

* reprise de la totalité d'un élevage le 22/4/97

** amaigrissement constaté depuis la fin de l'été en pâture, attribué par la responsable à la gestation avancée

Bien que classiquement décrits, les signes cliniques suivant n'ont pas été observés :

- changements comportementaux : refus d'aller à la traite ou dans le couloir, frottement ou appui intempestif de la tête

- troubles neurologiques et/ou locomoteurs : cécité, tourner en cercle, chute et parésie

bovins atteints d'ESB n'a été importé. Des bovins issus des troupeaux atteints d'ESB ont été vendus dans d'autres élevages belges (223 bovins), sont entrés dans des centres d'engraissement pour veaux (288 bovins), ont été abattus en Belgique (555 bovins), ont été enlevés par le clos d'équarrissage (93 bovins) et ont été exportés à destination des Pays-Bas (63 bovins), de la France (29 bovins), de l'Allemagne (27 bovins) et de l'Italie (24 bovins). Les autorités sanitaires de tous les pays concernés ont été prévenues par les Services Vétérinaires belges.

Résultats des analyses de laboratoire sur cerveaux provenant des exploitations atteintes d'encéphalopathie spongiforme bovine

Les résultats des tests histopathologiques, SAF et immunocytochimiques sont positifs pour les encéphales des 3

bovins atteints d'ESB. Les encéphales des 484 bovins âgés de 1 an et plus (439 bovins âgés de 2 ans et plus) qui, soit étaient présents dans les exploitations atteintes, soit provenaient de ces exploitations et qui se trouvaient présents dans d'autres exploitations en Belgique ont été analysés (examens histopathologiques et immunocytochimiques). C'est ainsi que 261, 154 et 69 bovins ont été testés se rapportant respectivement aux troupeaux 99/1, 99/2, 99/3. Les résultats de toutes les analyses ont été négatifs quant à la présence d'ESB. En tenant compte d'un risque accru de contamination lors du jeune âge, l'effectif des cohortes pour les 3 foyers d'ESB recensés en 1999 était respectivement de 44 (cas 99/1), 67 (cas 99/2) et 45 bovins (cas 99/3). Le nombre de bovins toujours vivants parmi ces cohortes était respectivement de 4 (cas 99/1) et 6 bovins (cas 99/2 et 99/3).

Taux d'incidence

En Belgique, les taux d'incidence annuelle de l'ESB calculés pour l'année 1999 sont les suivants :

- le taux d'incidence troupeaux est de 0,6/10 000 troupeaux détenant des bovins adultes;
- le taux d'incidence intra-troupeaux est de 0,6 % des bovins présents et de 0,9 % des bovins présents âgés de 2 ans et plus;
- le taux standardisé d'incidence est de 1,9/10⁶ bovins âgés de 2 ans et plus.

Alimentation des bovins atteints d'ESB

Les enquêtes alimentaires portent sur une période allant de quelques mois avant la naissance des bovins atteints d'ESB jusqu'au moment de la déclaration des cas. Pour le cas 99/1 (trou-

Tableau IV : Entrées et de sorties de bovins dans les troupeaux atteints d'ESB en 1999

	Troupeaux atteints d'ESB			Totaux (bovins)
	99/1	99/2	99/3	
Données recherchées à partir de :				
- Base de données informatisées SANITEL (année 1994)	X	X	X	
- Inventaires de troupeaux archivés dans les Fédérations des associations de lutte contre les maladies du bétail (dans ce cas, la date d'inclusion est précisée)	1993	1984	1991	
- Bons de commandes de boucles laïtons et plastiques	1990			
1) Bovins achetés :				
a - En Belgique :	66	199	10	275
b - Importation(s) en provenance de :				
Pays-Bas	5			5
Allemagne	13			13
2) Bovins vendus :				
a - En Belgique :				
abattoirs belges	170	238	147	555
autres élevages	137	56	30	223
stations d'engraissement de veaux	139	132	17	288
b - Exportation(s) à destination de :				
Pays-Bas	24	24	15	63
France	10	11	8	29
Allemagne	15	2	10	27
Italie		2	22	24
3) Bovins morts* :				
(clos d'équarrissage) :	28	36	29*	93

° les mortalités néonatales n'ont pas toutes été enregistrées dans Sanitel car les jeunes veaux morts ne sont pas encore bouclés

les causes de mortalité ne sont pas enregistrées dans Sanitel. Toutefois, une recherche rétrospective entreprise au sein des centres de prévention et de guidance vétérinaire dont dépend chaque exploitation n'a pas permis d'inventorier des troubles nerveux rapportés

* la plupart des bovins morts ont été autopsiés par le vétérinaire de l'exploitation ; les mortalités ont été attribuées à des septicémies

peau de destination), l'enquête débute en 1992, les factures antérieures n'ayant pas été conservées. Dans les trois cas d'ESB, la présence de farines animales dans les aliments composés pour bovins a été mise en évidence. Dans le cas 99/1, un aliment floconné pour veaux a été utilisé à la fin des années 1980 et au début des années 1990. Cet aliment contenait 5,3 % d'un concentré protéique qui, lui-même, contenait 50 à 55 % de farines animales. Dans le cas 99/2, une vingtaine de tonnes d'un aliment complémentaire pour vaches laitières a été livré en vrac, en plusieurs fois, durant l'année 1994. Cet aliment contenait 3,3 % de farines animales. Dans le cas 99/3, le même aliment que dans le cas 99/1 a été livré dans le premier semestre de l'année 1994. La présence conjointe de porcs, en tant qu'activité professionnelle, a été constatée seulement dans le troupeau 99/3 et les aliments composés destinés à ces animaux contenaient des farines animales. Un risque de contamination croisée ne peut être exclu dans aucun des trois cas d'ESB. Celui-ci est renforcé dans le cas 99/3 puisque le même tuyau de vidange du

camion était utilisé indistinctement pour les aliments composés pour porcs et bovins, livrés en vrac.

Contrôle des fabricants et négociants d'aliments

Durant l'année 1999, un total de 275 contrôles alimentaires concernant l'ESB ont eu lieu. Ces contrôles ont concerné 158 firmes, négociants ou exploitations fabriquant ou utilisant des aliments composés. Ils consistaient respectivement en la vérification de plusieurs points : (a) le respect des mentions d'étiquetage quant au traitement appliqué pour les produits issus de la transformation de déchets animaux de mammifères, quant à la présence de protéines issues de tissus de mammifères et quant à l'absence de MRS; (b) le respect de l'interdiction de mettre sur le marché belge des matières premières ou des aliments contenant des MRS et (c) le respect de l'obligation de conserver les formules des aliments fabriqués sur une période de 10 ans (Anonyme, 1998c). Lors de ces contrôles, 223 échantillons d'aliments pour ruminants ont été prélevés (107 firmes) et analysés microscopiquement, notamment, pour déterminer la présence de protéines animales. Tous les résultats des analyses ont été négatifs au seuil de quantification de 0,3 % de protéines animales.

DISCUSSION

Durant l'année 1999, 201 bovins présentant des signes neurologiques cliniques et 203 bovins sans signes neurologiques ont été analysés. Un total de 87 cas suspects d'ESB ont été identifiés en ferme chez des bovins âgés de plus de vingt mois. Parmi ceux-ci, 3 cas d'ESB ont été confirmés (3,4 %). Ainsi 43,3 % des cas suspects d'ESB ont été observés en ferme pour suspicion légitime d'ESB; le reste ayant été identifié à l'abattoir (34,3 %) ou via le réseau rage (22,4 %). Par ailleurs, l'évolution bimensuelle du nombre de cas suspects rapportés est similaire à celle observée en 1998 (corrélation des rangs de Spearman; $r^2 = 0,83$). Le nombre de cas déclarés mensuellement est le plus faible pendant les mois d'août, septembre et octobre. Cette observation a déjà été faite pour les mois d'août et septembre de l'année 1998. Cette période correspond à une surveillance moindre du fait de travaux agricoles (moisson, ensilage de maïs) mais pourrait également correspondre à une incidence moindre de maladies métaboliques et traumatiques (moins de vélages en cette période à l'échelle de la population). La répartition géographique des cas suspects est similaire à celle observée en 1998 (Saegerman et al., 1999b).

En effet, malgré un nombre moindre de bovins âgés de 2 ans et plus, un plus grand nombre de cas suspects d'ESB ont été déclarés au sud du sillon Sambre et Meuse (57,5 %), zone où historiquement la rage était prévalente (Saegerman et al., 1999a) et où un cas de rage chez une bête bovine a été diagnostiqué en 1999 (Brochier et al., 2000). Au sein de chaque région, les mêmes différences qu'en 1998 sont observées avec toutefois une augmentation sensible du nombre de cas suspects recensés en province de Liège et Brabant wallon. En ce qui concerne les exploitations négatives envers l'ESB, un examen histopathologique complet a pu être réalisé sur 192 bovins. Sur base de cet examen, une orientation diagnostique a été posée pour 67 bovins, soit 35 % (pourcentage similaire à celui observé en 1998). Ceux-ci ont présenté respectivement une image histopathologique compatible avec une listériose (41 bovins), une méningite et/ou une encéphalite purulente (14 bovins), une encéphalite non purulente avec extension aux méninges (10 bovins), une image compatible avec la rage (1 bovin) et un neuroblastome cérébelleux (1 bovin). L'image compatible avec une listériose se rencontre davantage en hiver et au printemps. Ceci peut signifier que la contagion peut être apportée aux bovins par des aliments ensilés infectés (Gibbons, 1974). Parmi les (méningo)-encéphalites non purulentes, un cas de BVD et un cas d'IBR ont été diagnostiqués (Roels et al., 2000). Une meilleure compréhension des causes non spécifiques et inconnues des cas neurologiques rapportés ainsi que la détermination d'un diagnostic étiologique des cas de méningites et/ou encéphalites purulentes et (méningo)-encéphalites non purulentes sont d'autres nécessités.

Les lignes directrices pour la surveillance et le suivi continus de l'ESB édictées par l'Office international des épizooties (OIE) spécifient que les bovins sont atteints de maladies nerveuses dans tous les pays, que l'ESB soit présente ou non, selon une incidence annuelle d'au moins 100 cas par million de bovins âgés de plus de 20 mois (Office international des épizooties, 1997). Un nombre suffisant d'encéphales de bovins âgés de plus de 24 mois, présentant des signes cliniques évoquant l'ESB, doit être examiné pour détecter la maladie avec

une probabilité de 99 % (NC = 99%), si elle représentait 1 % des cas de maladies nerveuses chez les bovins (Office international des épizooties, 2000). Dans notre pays, le nombre d'animaux à examiner peut ainsi être estimé à 149 encéphales (Cannon and Roe, 1982; Martin et al., 1987; Saana et al., 1994). En 1999, cette norme est atteinte avec un niveau de confiance de 99%, pour la Belgique dans son ensemble (encéphales de 178 bovins âgés de plus de 24 mois analysés) et pour le sud du sillon Sambre et Meuse (encéphales de 106 bovins âgés de plus de 24 mois). Cette norme est approchée avec un niveau de confiance de 70 % pour le nord du sillon Sambre et Meuse (encéphales de 72 bovins âgés de plus de 24 mois). Pour atteindre la norme OIE dans cette partie du pays, avec un niveau de confiance de 99%, il faudrait examiner 105 encéphales de bovins présentant des troubles neurologiques. Toutefois, comme l'échantillonnage n'est pas aléatoire, la détermination de la taille de celui-ci est indicative et doit être considérée comme un minimum (Office international des épizooties, 2000).

Dans les abattoirs, 69 suspicions d'ESB ont été déclarées, par des experts vétérinaires de l'Institut d'expertise vétérinaire. Elles ont toutes été infirmées. Il s'agissait de bovins moribonds, en décubitus abandonné, sans attestation sanitaire (absence de document IEV20), avec mentions figurant sur l'attestation sanitaire qui ne correspondaient pas au résultat de l'examen ante-mortem ou arrivés morts sans anamnèse. Ces suspicions n'avaient pas été identifiées ou rapportées avant le départ des bovins des troupeaux de provenance. Une partie de celles-ci peut être expliquée par la diminution de la gravité de certains signes cliniques neurologiques, en particulier l'hyperesthésie, quand on maintient les animaux dans un environnement calme et familial (Kimberlin, 1992) ou par la rémission de signes cliniques (Lars, 2000).

L'information, la sensibilisation, la formation et la responsabilisation permanente des acteurs du réseau d'épidémiosurveillance ainsi que la mise en place d'une surveillance active (tests de diagnostic post-mortem rapide) sont de nature à augmenter significativement le nombre de suspicions recensées en ferme et permettra, en partie, de combler la baisse de

surveillance passive observée lors des mois d'août, septembre et octobre. L'utilisation des tests doit viser en priorité les abattages spéciaux d'urgence et les bovins morts (décision 2000/374/CE de la Commission du 5 juin 2000). L'extension de son utilisation aux abattages normaux de bovins n'est justifiable que si elle vise les bovins adultes.

En ce qui concerne les bovins atteints d'ESB, les troupeaux d'origine se situent au sud du sillon Sambre et Meuse, région où proportionnellement plus de suspicions cliniques d'ESB en ferme ont été déclarées. Le taux standardisé d'incidence de l'ESB en Belgique pour l'année 1999 est de 1,9/10⁶ bovins âgés de 2 ans et plus. Le contrôle de qualité des réseaux d'épidémiosurveillance de l'ESB dans les différents Etats membres nécessite le suivi annuel de ce taux (Saegerman et al., 1999b).

La généalogie ne permet pas d'établir de lien de parenté entre les bovins atteints d'ESB dépistés en 1997, 1998 et 1999 (Vanopdenbosch et al., 1998; Saegerman et al., 1999b). Les mères des bovins atteints d'ESB en 1999 ont été abattues respectivement 15 mois (cas 99/2) et 33 mois (cas 99/3) après la naissance des bovins atteints sans présenter de troubles neurologiques. L'hypothèse d'une transmission verticale de l'ESB de la vache au veau (Wilesmith et al., 1992) n'est actuellement pas confirmée (Office Vétérinaire Fédéral, 1999b).

En Grande-Bretagne, dans les foyers d'ESB, seuls les animaux malades sont éliminés. Sur l'ensemble de l'anazootie d'ESB sévissant dans ce pays, le nombre moyen d'animaux malades par foyer en date du 1er septembre 1998 était de cinq (incidence cumulée). Il plaide en faveur de la coexistence d'animaux malades et en incubation dans les foyers (Durand et al., 1999). La modélisation de la dynamique de l'infection dans les troupeaux français atteints d'ESB indique que, lorsque la pression de contamination est faible, la probabilité de détecter un animal en incubation parmi les bovins abattus lors de foyers d'ESB est, en l'état actuel des techniques de diagnostic, faible et n'est que peu augmentée par un allongement de la période de détectabilité ante-clinique (Durand et al., 1999). Cette situation est imputable au fait qu'en présence d'un faible niveau de contamination, il ne reste rapide-

ment plus aucun animal infecté dans la cohorte, en raison de la réforme des animaux. Les nombres des bovins encore vivants parmi les cohortes des 3 foyers d'ESB sont faibles. Les résultats des examens histopathologiques et immunologiques réalisés sur ces bovins sont tous négatifs.

La combinaison d'enquêtes épidémiologiques (Donnelly et al., 1997) et de travaux de modélisation a permis de mettre en évidence que la sensibilité des animaux varie en fonction de leur âge. Cette sensibilité est maximale autour de l'âge d'un an, avec un pic situé à cet âge, et une sensibilité environ dix fois moindre par la suite (Ferguson et al., 1997). Dans chacun des 3 cas d'ESB, des aliments composés contenant des farines animales (ACCFA) avant leur date d'interdiction ont été livrés. L'hypothèse d'une contamination par les farines animales ne peut donc pas être rejetée. Des ACCFA ont pu être donnés aux bovins atteints et aux cohortes d'animaux dont ils faisaient partie. Dans les cas 99/1 et 99/3, il s'agit du même aliment qui avait été incriminé dans le cas 98/6 en Belgique et 97/1 au Grand-Duché de Luxembourg. Les farines animales constitutives de l'aliment composé incriminé proviennent de trois sources différentes (Belgique, France et Pays-Bas). L'origine primaire des farines n'a pas pu être déterminée. Dans le cas 99/1, le bovin incriminé a été soumis au risque pendant une très courte période (2 à 3 semaines) à partir du 15^{ème} jour après la naissance. Un temps d'incubation plus long a été observé pour ce cas. Par ailleurs, l'ACCFA incriminé dans le cas 99/2 est le même que dans le cas 98/5.

En application des directives 95/69/CE et 98/51/CE qui visent une meilleure maîtrise de la filière de production et de commercialisation des aliments composés pour animaux, un enregistrement ou une agréation est octroyé par le Ministère des Classes Moyennes et de l'Agriculture (DG4, Matières premières et produits transformés) en fonction des matières premières utilisées et de la démarche de qualité mise en place. Les contraintes correspondant à ces deux niveaux de reconnaissance sont inspirées du code de bonnes pratiques de fabrication (Good Manufacturing Practices, GMP). Complémentairement à la démarche minimale obligatoire (enre-

gistrement), des démarches volontaires (GMP ou certification ISO) ou obligatoires (agréation) sont entreprises visant au contrôle de la contamination en substances indésirables ou, de manière plus approfondie, à la maîtrise des risques que présentent certains produits (Hazard Analysis Critical Control Point – HACCP – analyse des dangers et points critiques pour leur maîtrise) (Anonyme, 2000d et 2000e, Parache, 2000). L'association professionnelle des fabricants d'aliments composés pour animaux (APFACA) considère l'agréation GMP comme une étape incontournable dans la démarche de qualité. Fin juin 2000, 75 % de la production nationale d'aliments composés étaient agréés GMP (Dejaegher, 2000). Ceci constitue une augmentation de 18 % par rapport à la fin de l'année 1998 (Saegerman et al., 1999b). Selon l'APFACA, 65 firmes fabriquent des aliments composés sous l'agréation GMP, 24 firmes ont introduit une demande afin d'entamer une procédure GMP et 40 autres firmes ont débuté une réflexion sur le sujet sous l'égide de cette association. Durant l'année 1999, un total de 275 contrôles alimentaires concernant l'ESB ont eu lieu. Lors de ces contrôles, 223 échantillons d'aliments pour ruminants ont été analysés microscopiquement, notamment, pour déterminer la présence de protéines d'origine animale. Tous les résultats des analyses ont été négatifs au seuil de quantification de 0,3 % de protéines animales.

Les principaux résultats d'une étude coûts/efficacité menée en Suisse, sur une base relativement modeste de données sûres se rapportant aux années antérieures à 1999, indiquent que les principales mesures prises jusqu'à présent sont efficaces (incinération des bovins atteints d'ESB et retrait de la consommation humaine des MRS). Par ailleurs, sur base d'un coefficient 10 du rapport coûts / efficacité qui constitue la valeur limite pour des risques alimentaires, quatre mesures supplémentaires sont dignes d'intérêt : l'utilisation des tests de dépistage rapide de l'ESB, l'interdiction de fendre la colonne vertébrale, l'élimination des intestins de bovins âgés de moins de 6 mois et l'interdiction de vendre des têtes d'ovins et de caprins. Les rapports coûts/efficacité

de ces mesures se situent tous autour de 10, ce qui n'est guère favorable mais il convient de les examiner plus en détail étant donné les nombreuses hypothèses qui ont été utilisées dans cette évaluation. Un effort s'impose également pour clarifier la transmission par le biais des agents thérapeutiques et des dispositifs médicaux (Office vétérinaire fédéral, 1999a).

REMERCIEMENTS

Nos remerciements s'adressent à tous les acteurs du réseau d'épidémiosurveillance des EST en Belgique et, en particulier, au personnel du CERVA et du service rage de l'IPB qui transportent, conditionnent et analysent les prélèvements éligibles ainsi qu'aux personnes qui ont mené les enquêtes épidémiologiques et alimentaires. Nous remercions également le Dr G. Czaplicki pour la lecture critique de ce manuscrit et le Dr F. Boelaert pour la cartographie.

SUMMARY :

Epidemiological surveillance of bovine spongiform encephalopathy in Belgium in 1999

In 1999, 201 cattle with neurological disorders and 203 without neurological disorders were analysed for the detection of bovine spongiform encephalopathy (BSE). During this year, BSE was diagnosed in three cows aged from 108, 66 and 73 months in the provinces of Liège (case 99/1), and Hainaut (case 99/2) and Namur (case 99/3) respectively. The current proposed hypotheses for contamination of these cows are : the use of animal meals in the feeding of these cattle before the ban (27/7/1994) and contamination of compound feed for polygastric animals with compound feed for monogastric animals containing meals of animal, during the manufacturing process, the storage, the transport or the distribution.

BIBLIOGRAPHIE

- ANONYME. Décision 94/381/CE de la Commission du 27 juin 1994 concernant certaines mesures de protection relatives à l'encéphalopathie spongiforme bovine de protection relatives à l'encéphalopathie spongiforme bovine et à l'alimentation à base de protéines dérivées de mammifères. Journal officiel des Communautés européennes, 1994, L172, 23-24.
- ANONYME. Directive 95/69/CE du Conseil des Communautés européennes du 22 décembre 1995 établissant les conditions et modalités applicables à l'agrément et à l'enregistrement de certains établissements et intermédiaires dans le secteur de l'alimentation animale et modifiant les directives 70/524/CEE, 74/63/CEE, 79/373/CEE et 82/471/CEE. Journal officiel des Communautés européennes, 1995, L332, 15-32.
- ANONYME. Décision 96/449/CE de la Commission du 18 juillet 1996 relative à l'agrément de systèmes de traitement thermique de remplacement pour la transformation de déchets animaux au regard de l'inactivation des agents de l'encéphalopathie spongiforme. Journal officiel des Communautés européennes, 1996, L184, 43-46.
- ANONYME. Arrêté royal du 17 mars 1997 organisant la surveillance épidémiologique des encéphalopathies spongiformes transmissibles chez les ruminants. Moniteur belge du 3 avril 1997a, 7783.
- ANONYME. Décision 97/735/CE de la Commission du 21 octobre 1997 relative à des mesures de protection en ce qui concerne les échanges de certains types de déchets animaux de mammifères. Journal officiel des Communautés européennes, 1997b, L 294, 7-16.
- ANONYME. Directive 98/51/CE du 9 juillet 1998 de la Commission établissant certaines mesures d'exécution de la directive 95/69/CE du Conseil établissant les conditions et modalités applicables à l'agrément et l'enregistrement de certains établissements et intermédiaires dans le secteur de l'alimentation animale. Journal officiel des Communautés européennes, 1998a, L208, 43-48.
- ANONYME. Directive 1998/88/CE de la Commission du 13 novembre 1998 établissant des lignes directrices pour l'alimentation et l'estimation, par examen microscopique, des constituants d'origine animale pour le contrôle officiel des aliments pour animaux. Journal officiel des Communautés européennes, 1998b, L318, 45-50.
- ANONYME. Arrêté royal du 30 octobre 1998 concernant l'agrément et l'enregistrement des fabricants et des intermédiaires et l'autorisation des opérateurs et négociants dans le secteur de l'alimentation des animaux. Moniteur belge du 31 décembre 1998c, 42340-42356.
- ANONYME. Décision 1999/534/CE du Conseil du 19 juillet 1999 concernant les mesures applicables au traitement de certains déchets animaux aux fins de la protection contre les encéphalopathies spongiformes transmissibles, et modifiant la décision 97/735/CE de la Commission. Journal officiel des Communautés européennes, 1999, L204, 37-42.
- ANONYME. Décision 2000/374/CE de la Commission du 5 juin 2000 modifiant la décision 98/272/CE relative à la surveillance épidémiologique des encéphalopathies spongiformes transmissibles. Journal officiel des Communautés européennes, 2000a, L135, 27-35.
- ANONYME. Décision 2000/418/CE de la Commission du 29 juin 2000 réglant l'utilisation des matériels présentant des risques au regard des encéphalopathies spongiformes transmissibles et modifiant la décision 94/474/CE. Journal officiel des Communautés européennes, 2000b, L158, 76-82.
- ANONYME. Document 326-3605-2/0. Untersuchung von belgischen Tieren mit dem Prionics-Test im Rahmen des Pilotprojektes in Nordrhein-Westfalen, 2000c, 14 pages.
- ANONYME. Le rapport de l'AFSSA sur l'alimentation animale et la sécurité sanitaire des aliments. Notre Alimentation, 2000d, 30, 3-4.
- ANONYME. Plus de rigueur dans les contrôles alimentaires. Tribune pour l'Europe, 2000e, 10 B, 3.
- BROCHIER B., VANOPDENBOSCH E., COPPENS P., THOONEN H., COSTY F., COIGNOUL F., LACAËYSE D., PASTORET P-P. Réseau d'épidémiosurveillance des encéphalopathies spongiformes en Belgique, premiers résultats. Ann. Méd. Vét., 1992, 136, 245-247.
- BROCHIER B., DECHAMPS P., COSTY F., HALLET L., PEHARPRE D., SAEGERMAN C., MOSSELMANS F., BEIER R., LECOMTE L., MULLIER P., ROLAND H., BAUDUIN B., KERVYN T., CHALON P., RENDERS C., PASTORET P-P. Deux ans d'absence de rage chez le renard en Belgique. Bilan de l'épidémiosurveillance de la rage en 1999. Ann. Méd. Vét., 2000, 144, 247-254.
- CANNON R.M., ROE R.T. Livestock disease surveys. A Field Manual for Veterinarians. Bureau of Rural Science, Department of Primary Industry, Australian Government Publishing Service. Canberra, 1982, 35.
- DEJAEGER Y. Stratégie de contrôle de la qualité des aliments composés : le point de vue de l'APFACA. Elev. Belg., 2000, 7-8, 10-11.
- DOHERR M., OESCH B., MOSER M., VANDEVELDE M., HEIM D. Targeted surveillance for bovine spongiform encephalopathy. Vet. Rec., 1999, 145, 672.
- DONNELLY C., FERGUSON N., GHANI A., WOOLHOUSE M., WATT C., ANDERSON R. The epidemiology of BSE in cattle herds in Great Britain. I. Epidemiological processes, demography of cattle and approaches to control by culling. Phylos. Trans. R. Soc. London. Series B : Biol. Sci., 1997, 352, 781-801.
- DURAND B., CALAVAS D., PHILIPPE S., DUCROT C. Modélisation de la dynamique de l'infection dans les troupeaux français atteints d'encéphalopathie spongiforme bovine. Epidémiol. Santé Anim., 1999, 35, 111-122.
- FERGUSON N., DONNELLY C., WOOLHOUSE M., ANDERSON R. The epidemiology of BSE in cattle herds in Great Britain. II. Model construction and analysis of transmission dynamics. Phylos. Trans. R. Soc. London. Series B : Biol. Sci., 1997, 352, 803-838.

- GIBBONS W.J. La listériose. In : Gibbons W.J., Catcott E.J., Smithcors J.F., Médecine et chirurgie des bovins. Vigot Frères : Paris, 1974, 179-183.
- KIMBERLIN R.H. Encéphalopathie spongiforme bovine. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epizoot., 1992, 11, 392-439.
- LARS F. Un cas d'ESB a présenté une phase de rémission clinique. Hebdo Vet., 2000, 21, 8-10.
- MARTIN S.W., MEEK A.H., WILLEBERG P. Veterinary Epidemiology. Principles and Methods. Iowa State University Press : Ames, 1987, 343.
- MILLER J.C., MILLER J.N. Limits of detection. In : Miller J.C., Miller J.N. Statistics for analytical chemistry. Second Edition, Ellis Horwood : Chichester, 1988, 115-117.
- OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES. Guidelines for continuous surveillance and monitoring of bovine spongiform encephalopathy. Appendix VIIIb of the January 1997 meeting of the International Animal Health Code Commission, document 65 SG/12/CS 1. OIE, Paris, 1997, 27-30.
- OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES. Santé animale mondiale en 1999, tome 2, 441.
- OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES. Système de surveillance et de suivi continu de l'encéphalopathie spongiforme bovine. Code zoosanitaire. Annexe 3.8.3, mise à jour le 25/9/2000.
- OFFICE VETERINAIRE FEDERAL. Rapports sur la santé de l'animal et de l'homme, Centre d'information sur la santé en Suisse, 1999a, 3, 10-14.
- OFFICE VETERINAIRE FEDERAL. Rapports sur la santé de l'animal et de l'homme, Centre d'information sur la santé en Suisse, 1999b, 4, 10-12.
- PARACHE P. Le contrôle qualité, arme commerciale ou contrainte administrative. Elev. Belg., 2000, 7-8, 12-14.
- ROELS S., CHARLIER G., LETELLIER G., LEYER G., SCHYNTS F., KERKHOF S., THIRY E., VANOPDENBOSCH E. Natural case of bovine herpesvirus 1 meningoencephalitis in an adult cow. Vet. Rec., 2000, 146, 586-588.
- SAANA M., GERBIER G., ELOIT M., TOMA B. Echantillonnage dans les enquêtes descriptives. Epidemiol. Santé Anim., 1994, 25, 45-67.
- SAEGERMAN C., CLAES M., VANOPDENBOSCH E., BIRONT P., DELUYKER H., THIRY E. Etude rétrospective de l'incidence des cas neurologiques rapportés et suspects d'encéphalopathie spongiforme transmissible chez les bovins en Belgique. Epidemiol. Santé Anim., 1999a, 35, 31-42.
- SAEGERMAN C., DECHAMPS P., VANOPDENBOSCH E., ROELS S., PETROFF K., DUFEY J., VAN CAENEGEM G., DEVREESE D., VAREWIJCK H., DE CRAEMERE H., DESMEDT I., CORMANN A., TORCK G., HALLET L., HAMELRIJCKX M., LEE-MANS M., VANDERSANDEN A., PEHARPRE D., BROCHIER B., COSTY F., MULLER P., THIRY E., PASTORET P-P. Epidémiosurveillance de l'encéphalopathie spongiforme bovine en Belgique : bilan de l'année 1998. Ann. Méd. Vét., 1999b, 143, 423-436.
- SCHALLER O., FATZER R., STACK M., CLARK J., COOLEY W., BIFFIGER K., EGLI S., DOHERR M., VANDEVELDE M., HEIM D., OESCH B., MOSER M. Validation of a Western immunoblotting procedure for bovine PrPsc detection and its use as a rapid surveillance method for the diagnosis of bovine spongiform encephalopathy (BSE). Acta Neuropathol., 1999, 98, 437-443.
- SCHWARTZ D. Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes. Edition Flammarion : Paris, 1991, 306.
- SCIENTIFIC STEERING COMMITTEE. Final opinion on the geographical risk of bovine spongiform encephalopathy adopted on 6 July 2000, 60.
- TOMA B., BENET J-J., DUFOUR B., ELOIT M., MOUTOU F., SANAA M. Glossaire d'épidémiologie animale. Editions du Point Vétérinaire : Maisons-Alfort, 1991, 365 p.
- VANOPDENBOSCH E., DECHAMPS P., DUFEY J., ROELS S., MULLIER P., HALLET L., BROCHIER B., COSTY F., CHARLIER G., FOUREZ R., SAEGERMAN C., PASTORET P-P. Le premier cas d'encéphalopathie spongiforme bovine diagnostiqué en Belgique. Ann. Méd. Vét., 1998, 142, 111-118.
- WILESMITH J.W., RYAN J.B.M., HUESTON W.D. Bovine spongiform encephalopathy : case control studies of calf feeding practices and meat and bone meal inclusion in proprietary concentrates. Rev. Vet. Sci., 1992, 52, 325-331.