

Génétique de la résistance à la tremblante des ovins : état des connaissances et application pour l'amélioration génétique des populations ovines françaises

I. PALHIÈRE (1), J.M. ELSÉN (1), F. BARILLET (1), J.M. ASTRUC (2), B. BIBÉ (1), J. BOUIX (1), M.Y. BOSCHER (3), O. CATROU (4), F. DION (5), D. FRANÇOIS (1), L. GRIFFON (6), E. JULLIEN (6), M. ORLIANGES (5), G. PERRET (7), R. VALOGNES (4)

(1) INRA, SAGA, BP27, 31326 Castanet

(2) Institut de l'Élevage, INRA-SAGA, BP27, 31326 Castanet Tolosan

(3) LABOGENA, INRA, 78352 Jouy en Josas

(4) Ministère de l'Agriculture, DPÉI, 3 rue Barbet de Jouy, 75349 Paris

(5) France Upa Selection, 16 rue C Bernard, 75231 Paris cedex 05

(6) Institut de l'Élevage, 149 rue de Bercy, 75595 Paris Cedex 12

(7) Institut de l'Élevage, BP18, 31321 Castanet Tolosan Cedex

RESUME – De nombreuses données ont été accumulées par des équipes de différents pays montrant qu'il existe chez les ovins une variabilité génétique de la sensibilité à la tremblante. Cette variabilité est essentiellement due au polymorphisme d'un gène, PrP, dont un des allèles (l'allèle « ARR ») confère aux animaux homozygotes (ARR/ARR) une résistance absolue et aux animaux hétérozygotes une forte protection contre cette pathologie. Par ailleurs, le portage chez les premiers serait inexistant et ne serait pas détectable non plus chez les seconds. A l'inverse, un des allèles (« VRQ ») donne une très grande sensibilité aux animaux homozygotes, qui sont porteurs de l'agent infectieux dès le jeune âge. A ce jour, cette résistance ou sensibilité, selon le génotype au gène PrP, est observée aussi bien vis à vis de l'agent pathogène de la tremblante que de l'agent de l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) lors de contaminations expérimentales de moutons.

Ces données justifient l'organisation d'une sélection des populations ovines sur le gène PrP pour améliorer leur résistance et pour assurer l'absence d'infectiosité des agneaux de consommation. Cette sélection a débuté au niveau national dans trois pays européens (Grande Bretagne, Pays Bas et France). Le plan français vise à éliminer l'allèle VRQ le plus rapidement possible, à fournir aux élevages atteints des reproducteurs de remplacement résistants à la tremblante, à augmenter progressivement la fréquence de l'allèle ARR et à créer aussi vite que possible des béliers ARR/ARR comme pères des agneaux de boucherie. Ce plan, qui repose sur les UPra, a pour finalité l'amélioration de l'ensemble de la filière ovine française.

Genetics of resistance to scrapie in sheep : state of the art and application to the genetic improvement of the French ovine populations

I. PALHIÈRE (1), J.M. ELSÉN (1), F. BARILLET (1), J.M. ASTRUC (2), B. BIBÉ (1), J. BOUIX (1), M.Y. BOSCHER (3), O. CATROU (4), F. DION (5), D. FRANÇOIS (1), L. GRIFFON (6), E. JULLIEN (6), M. ORLIANGES (5), G. PERRET (7), R. VALOGNES (4)

(1) INRA, SAGA, BP27, 31326 Castanet

(2) Institut de l'Élevage, INRA-SAGA, BP27, 31326 Castanet Tolosan

(3) LABOGENA, INRA, 78352 Jouy en Josas

(4) Ministère de l'Agriculture, DPÉI, 3 rue Barbet de Jouy, 75349 Paris

(5) France Upa Selection, 16 rue C Bernard, 75231 Paris cedex 05

(6) Institut de l'Élevage, 149 rue de Bercy, 75595 Paris Cedex 12

(7) Institut de l'Élevage, BP18, 31321 Castanet Tolosan Cedex

SUMMARY – Numerous observations originating from different countries show that a genetic variability of the susceptibility to scrapie exists in sheep. This variability is mainly explained by the polymorphism at a single locus, PrP, with one of its alleles (ARR) giving a full resistance to this disease in homozygous ARR/ARR animals, and a strong protection of heterozygous animals. On the other hand, ARR/ARR's do not seem to be healthy carriers of prion and infectivity is neither detectable in heterozygous sheep. On the opposite, VRQ allele gives a high susceptibility to homozygous carriers. Until now, this genetic variability of the resistance is observed for the conventional scrapie agent as well as for the BSE agent when inoculated experimentally. Based on these results it seems sensible to organise selection of sheep population in order to improve both their resistance to ESST and the safety of lamb meat products. Such a selection has been organised at a national level in three European countries (The United Kingdom, The Netherlands and France). The French scheme aims at eliminating VRQ allele as fast as possible, at providing scrapie-resistant breeding animals to farmers facing the disease in their flock, at increasing the ARR frequency in the selected populations and at producing a large number of ARR/ARR rams as terminal sires for lamb meat production. This scheme, based on the work of the breed societies (so called UPra), is devoted to improve the whole French sheep livestock.

INTRODUCTION

La tremblante des petits ruminants (ou scrapie en Anglais) est une maladie neurodégénérative, d'issue fatale, sans traitement connu, qui appartient au groupe des encéphalopathies subaiguës spongiformes transmissibles (ESST) ou maladies à prion. Dans le groupe de ces maladies à prion figurent notamment la maladie de Creutzfeldt-Jakob chez l'homme et l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) ou maladie de la vache folle. La tremblante était déjà décrite voici 250 ans et touche actuellement la plupart des pays producteurs d'ovins, avec l'exception notable de la Nouvelle Zélande et de l'Australie.

La tremblante est réputée non contagieuse pour l'homme, alors que la consommation de viande de bovins atteints d'ESB est à l'origine d'une nouvelle forme de la maladie de Creutzfeldt-Jakob, dont plus de 120 malades sont morts à ce jour essentiellement au Royaume Uni. Il a été montré expérimentalement que les ovins peuvent être contaminés par la maladie de la vache folle (Jeffrey *et al*, 2001). Un ovin atteint d'ESB pouvant probablement lui même être contaminant pour l'homme, des efforts importants sont mis en œuvre pour tester si cette contamination interspécifique (bovin-ovin) est intervenue ou pas dans les élevages de production. Les tests biologiques permettant de différencier une tremblante ordinaire d'une éventuelle ESB ovine se simplifient progressivement et devraient permettre d'évaluer cette hypothèse à grande échelle. Au delà du réel problème de santé animale que pose la tremblante « classique », ce risque potentiel d'ESB ovine justifie les efforts soutenus de plusieurs pays pour éradiquer toutes formes d'encéphalopathies chez le mouton.

Les essais d'éradication de cette maladie fondés sur une politique d'abattage total des cheptels atteints suivi d'une désinfection, ont le plus souvent conduit à des échecs du fait de la longue rémanence de l'agent infectieux dans le milieu d'élevage et de sa très forte résistance aux procédés de décontamination. Ainsi, aux USA, une telle stratégie organisée dès 1952 n'a pas abouti au succès (Detwiler, 1996). Seule l'Islande semble en voie de réussir avec un plan d'éradication très coûteux et pas forcément reproductible qui comprend les éléments suivants : division du pays en zones saines/touchées, abattage total des élevages atteints avec destruction du matériel d'élevage, élimination de la terre autour des locaux d'élevage, interdiction de reprendre l'élevage pendant au moins trois ans, choix des animaux de remplacement dans des secteurs indemnes (Sigurdarson, 1991).

Chez l'homme, une composante héréditaire de la sensibilité aux ESST est clairement démontrée : environ 10% des formes de maladie de Creutzfeldt-Jakob sont familiales, alors que le syndrome de Gertsman-Sträussler-Scheinker et l'Insomnie Fatale Familiale sont des maladies héréditaires à transmission dominante. Le rôle du gène PrP codant pour la protéine prion (glycoprotéine membranaire ubiquiste) y est fondamental et explique l'essentiel de ces composantes héréditaires.

Chez les animaux, la possibilité d'un contrôle génétique de la sensibilité aux ESST naturelles et expérimentales a été étudiée chez la souris, le mouton et le bovin. S'il est clairement établi pour les deux premières espèces, aucun argument définitif ne permet à ce jour d'affirmer l'existence chez les bovins d'une variabilité génétique de la sensibilité à l'ESB. Après avoir rappelé les connaissances sur ce contrôle génétique chez les ovins, nous décrirons les principes de son utilisation en sélection, exposerons les cadres réglementaires et techniques dans lesquels ces principes sont mis en œuvre en France et donnerons des exemples d'applications.

1. CONTRÔLE GÉNÉTIQUE DE LA SENSIBILITÉ AUX ESST CHEZ LES OVINS

1.1. SENSIBILITÉ À LA TREMBLANTE ET POLYMORPHISME DU GÈNE PrP

Les travaux de transmission expérimentale débutés en 1938 sur les ovins au Royaume Uni ont apporté une contribution essentielle aux connaissances sur la sensibilité à la tremblante (Dickinson, 1976). Des lignées de moutons ont été sélectionnées sur la base de leur réponse à l'injection d'une source

standardisée de tremblante constituée d'un mélange d'encéphales d'animaux tremblants. La réponse très forte à la sélection contre la sensibilité observée dans la lignée négative Cheviot au NPU d'Edimbourg (Dickinson, 1976) fut expliquée, grâce à des croisements appropriés entre les deux lignées, par l'effet d'un gène à effet majeur (Sip pour scrapie incubation period) avec deux allèles en ségrégation, sA (short incubation) et pA (prolonged incubation) (Dickinson *et al*, 1968). Les premières analyses ont suggéré un effet dominant de l'allèle sA, mais par la suite une dominance partielle fut démontrée, la durée d'incubation de la tremblante étant plus longue chez les animaux hétérozygotes que chez les sAsA (Foster et Hunter, 1991).

Vingt ans après cette découverte, un polymorphisme génétique de type RFLP lié au locus Sip fut découvert en utilisant des sondes du gène PrP et les enzymes de restriction EcoRI et HindIII (Hunter *et al*, 1989). Il est maintenant prouvé que Sip et PrP sont un seul et même gène.

Tableau 1
Les allèles connus du gène PrP ovien

Allèle	Codons									
	112	136	137	138	141	151	154	171	176	211
ARQ	M	A	M	S	L	R	R	Q	N	R
T112ARQ	T	A	M	S	L	R	R	Q	N	R
VRQ	M	V	M	S	L	R	R	Q	N	R
TRQ	M	T	M	S	L	R	R	Q	N	R
AT137RQ	M	A	T	S	L	R	R	Q	N	R
AN138RQ	M	A	M	N	L	R	R	Q	N	R
AF141RQ	M	A	M	S	F	R	R	Q	N	R
AC151RQ	M	A	M	S	L	C	R	Q	N	R
AHQ	M	A	M	S	L	R	H	Q	N	R
ARH	M	A	M	S	L	R	R	H	N	R
ARR	M	A	M	S	L	R	R	R	N	R
ARK	M	A	M	S	L	R	R	K	N	R
ARQK176	M	A	M	S	L	R	R	Q	K	R
ARQQ211	M	A	M	S	L	R	R	Q	N	Q

Quatorze allèles ont été décrits pour le gène Prp (tableau 1), selon Laplanche *et al*, 1993, Cloucard *et al*, 1995, Belt *et al*, 1995, Bossers *et al*, 1996, Hunter *et al*, 1996, Thorgeirsdottir *et al*, 1999. Pour le moment, trois codons seulement (136, 154, 171) ont été clairement associés à des variations de sensibilité à la tremblante. Toute les combinaisons possibles des trois codons 136 (T/A/V), 154 (R/H) et 171 (Q/R/H/K) ne sont pas rencontrées. L'allèle ancestral est probablement ARQ (notation simplifiée pour A₁₃₆ R₁₅₄ Q₁₇₁) et 6 allèles mutés ont été détectés (TRQ, VRQ, AHQ, ARH, ARR, ARK), chacun d'entre eux dérivant de l'allèle ancestral par mutation ponctuelle d'un codon. La variabilité de la sensibilité à la tremblante doit être mise en relation avec ce polymorphisme global plutôt que codon par codon. L'idée dominante est que les allèles VRQ (toujours) et ARQ (en général) sont associés à la sensibilité à la tremblante et que les allèles ARR (toujours) et AHQ (en général) confèrent de la résistance. Une étude épidémiologique de type cas/témoin menée à l'échelle européenne n'a permis de détecter aucun ARR/ARR parmi plus de 2000 cas de tremblante confirmées par histopathologie, cependant que ce génotype représentait 15,5% de la population de 9141 témoins (Elsen *et al*, 2002). Les animaux VRQ/VRQ représentaient 13,7% des tremblants et 0,6% des témoins.

Le seul cas de mouton ARR/ARR tremblant rapporté à ce jour est celui d'un Suffolk japonais (Ikeda *et al*, 1995), considéré avec de plus en plus de circonspection par les experts.

Les allèles TRQ et ARK sont très peu répandus et rares sont les informations disponibles quant à leur effet sur la sensibilité à la tremblante. Les allèles de forte sensibilité VRQ, ou de résistance AHQ et ARR sont partiellement dominants sur les autres allèles. Aussi observe t'on une sensibilité marquée chez les hétérozygotes VRQ/ARQ et VRQ/ARH mais parfois réduite par rapport aux VRQ/VRQ (Elsen *et al*, 1999). Les relations de dominance entre les allèles de résistance (ARR, AHQ) et de sensibilité (VRQ) sont variables, mais dans la plu-

part des cas, les ovins ARR/VRQ et AHQ/VRQ ne sont que marginalement atteints par la maladie.

1.2. CONDITIONS DE L'UTILISATION DES ALLÈLES DE RÉSISTANCE À LA TREMBLANTE EN SÉLECTION

Les résultats obtenus par les différents auteurs pour plusieurs races ovines élevées dans différents milieux montrent qu'il existe une variabilité génétique de la sensibilité à la tremblante et suggèrent donc que puissent être mises en place des sélections en faveur de cette résistance. Compte tenu de nos connaissances actuelles, il conviendrait de sélectionner en faveur de l'allèle ARR.

Avant de préconiser l'application d'une telle sélection à grande échelle, plusieurs points doivent toutefois être vérifiés.

Il est établi que différentes souches de tremblante co-existent (Bruce *et al.*, 1994). Des ovins d'un génotype PrP donné peuvent être sensibles à certaines souches inoculées artificiellement, résistants à d'autres (Foster et Dickinson, 1988 ; Goldmann *et al.*, 1994). Il faut donc vérifier que les ovins ARR/ARR sont résistants à toutes les souches d'ESST. Plusieurs éléments vont dans ce sens : i) la grande variété des races et des milieux dans lesquelles ont été mises en relation le polymorphisme de PrP et la sensibilité à la tremblante, variété recouvrant potentiellement un large éventail de types de souches de tremblante ; ii) les premiers résultats d'inoculation expérimentale indiquant que les moutons ARR/ARR seraient résistants à l'agent de l'ESB (aucun cas détecté deux ans après l'inoculation par voie orale de 21 Romney ARR/ARR) (Jeffrey *et al.*, 2001) ; iii) la liaison observée entre le polymorphisme de ces codons et l'efficacité de la conversion *in vitro* de la forme normale de la protéine PrP vers la forme pathologique (PrPsc) (Bossers *et al.*, 2001). Quoiqu'il en soit, les réseaux d'épidémiologie-surveillance qui se mettent en place dans les pays concernés pourraient intégrer dans leurs missions le génotypage systématique des cas de tremblante confirmée, afin de vérifier qu'aucun mouton ARR/ARR ne tombe malade, un tel dispositif supposant toutefois une organisation et une traçabilité irréprochables.

Les mécanismes créant la résistance génétique aux ESST sont encore mal connus. Il n'est pas exclu que les animaux dits résistants se révèlent être des "porteurs sains" qui seraient alors des réservoirs d'agents pathogènes. Une sélection pour la résistance aurait à terme des effets pervers sur l'évolution de la maladie dans les élevages. Cette question du portage silencieux du prion a été abordée par des techniques d'immuno-histo-chimie, de l'accumulation de la protéine scrapie « PrPsc » dans les tissus lymphoïdes ou nerveux, en particulier dans les amygdales, susceptibles d'exploration *in vivo*. L'ensemble des résultats disponibles indique que les ARR/ARR ne sont pas porteurs en situation de contamination naturelle cependant que les animaux VRQ/VRQ peuvent l'être dès l'âge d'un mois (plaques de Peyer), (Andréoletti *et al.*, 2000 ; Dickinson *et al.*, 1968 ; Schreuder *et al.*, 1996). Les moutons ARR/ARR inoculés *per os* avec l'agent de l'ESB ne seraient pas non plus des porteurs sains de cet agent (Jeffrey *et al.*, 2001a ; Foster *et al.*, 2001). L'absence de portage sain des ARR/ARR en conditions expérimentales est retrouvée sur des animaux venant d'élevages infectés soit à partir de biopsies d'amygdales sur animaux vivants (Jeffrey *et al.*, 2001b) soit par l'analyse d'animaux de réforme (Barillet *et al.*, 2002a). Le tableau 2 rapporte l'exemple d'une recherche systématique de PrPsc dans les amygdales et l'encéphale des brebis Causses du Lot d'un élevage à forte incidence de tremblante (55 cas en 4 ans) qui avait fait l'objet d'un abattage total.

Tableau 2
Nombre de brebis porteuses de PrPsc en fonction du génotype dans un élevage infecté

Génotype	VRQ	ARQ	ARQ	AHQ	AHQ	ARR	ARR	AHQ	ARR	ARR
	VRQ	VRQ	ARQ	VRQ	ARQ	VRQ	VRQ	AHQ	AHQ	ARR
Saines	0	17	106	7	64	10	70	6	12	3
Porteuses	0	6	6	0	0	0	0	0	0	0

Améliorer la résistance à la tremblante n'est qu'un des objectifs de sélection pour les populations ovines. Il est important de vérifier que cette sélection ne peut pas détériorer d'autres caractères, de productivité ou d'adaptation. Un tel phénomène pourrait avoir trois origines : un effet direct de l'allèle ARR sur un de ces caractères, une liaison génétique entre le locus PrP et un QTL contrôlant un de ces caractères avec un déséquilibre de liaison entre les deux locus, ou une association fortuite défavorable entre les génotypes en PrP et les valeurs génétiques des reproducteurs disponibles, si ces derniers sont en effectif réduit, par exemple les mâles élites. Si aucune de ces situations ne condamne complètement la sélection en faveur de l'allèle de résistance, les procédures pour contrebalancer leur effet négatif diffèrent, si toutefois il existe. Il convient donc de tester ces hypothèses. Des premiers travaux en France n'ont pas permis de détecter de tels effets sur les caractères de reproduction (Bonnet, 1999) ni sur les caractères laitiers (Barillet *et al.*, 2002b). Au Royaume Uni, Roden *et al.* (2001) n'ont pas trouvé de relation entre le génotype PrP et plusieurs caractères.

La sélection pour la résistance à la tremblante est une opération coûteuse dont il convient d'optimiser l'organisation. Les coûts sont directs (le génotypage de PrP) et indirects (perte de progrès génétique sur les autres caractères, même en l'absence d'effet négatif de PrP sur leur variabilité, du fait de la baisse des pressions de sélection sur ces autres caractères). Cette optimisation peut faire l'objet d'une modélisation mathématique (Casu, 1998).

2. PRINCIPES DE L'UTILISATION DE LA RÉSISTANCE À LA TREMBLANTE EN SÉLECTION

Les connaissances actuelles permettent donc d'envisager d'utiliser le polymorphisme du gène PrP pour améliorer la résistance à la tremblante (et probablement également à l'ESB) et limiter le portage sain dans les populations ovines (voir par exemple Dawson *et al.*, 1998). A noter que l'utilisation de béliers ARR/ARR donnerait très rapidement une protection importante des élevages puisque les hétérozygotes ARR sont très peu sensibles à la tremblante. Le génotypage des animaux pour leur gène PrP peut être organisé à grande échelle. Plusieurs techniques sont disponibles pour réaliser ce génotypage (Taqman, PCR-RFLP, séquençage systématique). En Europe, trois pays ont déjà organisé ce typage à un niveau national (Royaume Uni, France et Pays Bas) et les techniques sont disponibles dans la plupart des pays.

Au Royaume Uni et au Pays Bas, l'amélioration de la résistance à la tremblante des populations ovines est basée sur l'adhésion individuelle des éleveurs sélectionneurs à des programmes de qualification de reproducteurs et de cheptel (National scrapie plan, voir www.defra.gov.uk/animalh/bse/bse-science/scrapie/nsp, Dutch Scrapie Control Programme, voir Smits *et al.*, 2000).

Le dispositif du Ministère de l'Agriculture français pour lutter contre la tremblante comprend différents volets complémentaires (voir www.agriculture.gouv.fr/alim/sant/mala/tremblante) :

- Un réseau de surveillance clinique renforcé par une surveillance active grâce à des tests biochimiques « rapides » réalisés sur des tronc cérébraux d'animaux collectés à l'abattoir (40 000 tests) et à l'équarrissage (20 000 tests) ;
- Des mesures de police sanitaire comprenant le retrait de matériaux à risques des circuits de commercialisation et des plans d'abattage des troupeaux atteints tenant compte des génotypes Prp des animaux ;

· Un plan de sélection pour la résistance à la tremblante basé sur l'exploitation du polymorphisme de PrP

Si l'esprit général de ce plan de sélection est une élimination des allèles de sensibilité au profit de l'allèle de résistance ARR, il recouvre des objectifs à plus ou moins long terme. L'élimination de l'allèle VRQ, généralement de faible fréquence, donc ne posant pas de problèmes insurmontables de renouvellement des reproducteurs quand ceux-ci en sont trouvés porteurs, est un but à atteindre au plus vite car cet allèle confère une très grande sensibilité à la tremblante. L'utilisation à grande échelle de béliers homozygotes ARR/ARR, dont tous les agneaux seraient protégés du portage jusqu'à l'âge d'abattage est un deuxième objectif à satisfaire le plus rapidement possible. Il protégerait les consommateurs d'un risque potentiel de transmission d'une ESST (notamment l'ESB) qu'ils pourraient subir en consommant de la viande ovine. Elle est envisagée dans le « Contingency Plan » proposé par le DEFRA du Royaume Uni dans l'éventualité où des cas d'ESB seraient détectés chez des ovins (DEFRA, 2001). Enfin, l'augmentation de la fréquence de l'allèle ARR chez l'ensemble des brebis mères, allant au long terme jusqu'à sa fixation, ne peut pas concrètement être obtenu dans le court terme et doit être visé à une échéance plus lointaine, en veillant à ne pas détériorer les autres caractères par un relâchement excessif de leur sélection.

Une enquête a été réalisée au niveau européen (programme CT973305) en 1999-2000 sur des échantillons représentatifs d'une cinquantaine de races ovines pour évaluer les fréquences des allèles du gène PrP. Cet inventaire donne pour chaque race les éléments nécessaires pour raisonner une organisation de la sélection sur la résistance à la tremblante.

Tableau 3
Fréquences PrP initiales des races françaises

Race	ARR	AHQ	ARQ	VRQ
Causses du Lot	0,151	0,174	0,604	0,071
Est à laine Mérinos	0,159	0,066	0,774	0
Vendéen	0,163	0	0,822	0,015
Manech tête rousse	0,171	0,003	0,808	0,018
Noire du Velay	0,227	0	0,736	0,036
Blanc du Massif Central	0,25	0,05	0,621	0,079
Texel	0,27	0,05	0,59	0,09
Charmoï	0,313	0,03	0,495	0,162
Tarasconnais	0,325	0,01	0,66	0,005
Mérinos d'Arles	0,359	0,025	0,591	0,025
INRA401	0,37	0,06	0,47	0,1
Basco-Béarnaise	0,388	0	0,612	0
Lacaune viande (lignée OviTest)	0,4	0,03	0,505	0,065
Limousine	0,406	0	0,594	0
Rava	0,43	0,007	0,528	0,035
Grivette	0,441	0	0,544	0,015
Préalpes du Sud	0,441	0	0,559	0
Corse	0,454	0,049	0,495	0,002
Manech tête noire	0,508	0,008	0,482	0,003
Lacaune viande (lignée Gebro)	0,566	0,01	0,278	0,146
Hampshire	0,602	0,005	0,379	0,015
Lacaune (lait)	0,632	0,016	0,343	0,009
Bizet	0,632	0,019	0,349	0
Rouge de l'ouest	0,667	0	0,25	0,083
Ile de France	0,687	0	0,146	0,167
Bleu du Maine	0,7	0	0,05	0,25
Suffolk	0,704	0	0,281	0,015
Berrichon du Cher	0,805	0,063	0,105	0,026

Parmi les races ovines françaises, les fréquences des allèles ARR, ARQ, VRQ et AHQ varient respectivement de 0 à 80%, 5 à 82%, 0 à 25% et 0 à 17% (tableau 3). Les races de croisement terminal sont plutôt protégées contre la tremblante, avec des fréquences d'ARR de 60 à 80%, à l'exception de la Charmoïse, de la Texel et de la Vendéenne qui possèdent 30% ou moins de ARR. Les résultats relatifs à la race Charollaise chez nos partenaires européens indiquent une protection moyenne

(46, 46 et 33% d'ARR dans les populations charollaises du Royaume Uni, d'Irlande et des Pays Bas) qui a été confirmée récemment par des résultats français (40% d'ARR). Les races maternelles du sud, à l'exception de la Bizet qui possède plus de 60% d'ARR, sont plus sensibles, avec des taux d'ARR variant de 20 à 45%. Enfin, au moment de cet inventaire, la situation des races laitières était très variée entre 17% d'ARR pour les Manech Tête Rousse et 63% pour la Lacaune avant sélection. La situation de la race Manech Tête Rousse a favorablement évolué depuis puisque la fréquence de l'allèle ARR est maintenant de 40% pour les béliers d'IA.

3. CADRE DES APPLICATIONS

En France, la sélection pour la résistance à la tremblante a débuté en 1995 par le typage au gène PrP des béliers des centres d'insémination artificielle en race Lacaune lait. Les autres races ovines laitières ont pris la même décision en 1997 ou 1998 pour les races Basco-béarnaise et Manech et en 1999 pour la race Corse. Dans un premier temps, la stratégie de sélection a consisté à éliminer les béliers d'IA porteurs de l'allèle VRQ. Puis, à partir de 1999, la sélection systématique en faveur de l'allèle ARR a été mise en oeuvre dans les schémas de sélection Lacaune (lait) et Manech tête rousse. En ovins allaitants, le typage pour le gène PrP des béliers de station de contrôle individuel ou des centres d'IA est plus récent et correspond généralement à l'inventaire racial établi en 1999-2000, dont les résultats sont présentés dans le tableau 3. Simultanément, la race Manech tête rousse en 1999 et la race Causses du Lot en 2000, toutes deux caractérisées par une très faible fréquence de l'allèle ARR et la présence de foyers de tremblante dans leur bassin de production, ont mis en place des actions spécifiques visant à procréer et à utiliser par insémination artificielle des béliers homozygotes résistants (ARR/ARR) dans des élevages atteints de tremblante.

Le passage d'actions locales de sélection génétique pour la résistance à la tremblante à l'application généralisée dans toutes les races d'un outil génétique pour lutter contre les ESST a été accéléré, le 19 octobre 2001, par l'annonce, démentie ultérieurement, des résultats d'une équipe de chercheurs britanniques stipulant que des ovins contaminés naturellement pourraient être porteurs de l'agent de l'ESB. Dans ce contexte de crise, les professionnels de la production ovine (FNO, FNCBV, FUS, FNGDS, ANIO, Interbev ovins, Interprofessions laitières,...), le Ministère de l'Agriculture (DPEI et DGAI) et les organismes scientifiques et techniques (INRA, Institut de l'Élevage) ont proposé la mise en place d'un plan d'amélioration génétique de la résistance à la tremblante (et à l'ESB) à la Commission Nationale d'Amélioration Génétique (CNAG) qui en a validé les modalités techniques le 21 novembre 2001. L'agrément général du plan, quant à lui, date d'une réunion interministérielle le 6 mars 2002.

Le plan d'amélioration génétique de la résistance à la tremblante est programmé sur cinq ans. Son financement est assuré par le Ministère de l'Agriculture à hauteur de 13,3 millions d'euros. Les actions financées concernent le génotypage des animaux prévus dans le programme de chaque race, leur élimination et leur remplacement s'ils sont sensibles. Par ailleurs, un arrêté annuel définit les génotypes des animaux à éliminer et les génotypes des animaux pouvant être inscrits dans les livres généalogiques et/ou vendus à des fins de reproduction. Parallèlement, un arrêté de police sanitaire incluant la prise en compte du déterminisme génétique de la sensibilité à la tremblante, est paru le 15 mars 2002 stipulant les actions à mettre en place dès l'apparition d'un cas clinique confirmé dans un élevage : génotypage de tous les animaux, marquage puis élimination des animaux sensibles, repeuplement avec des béliers homozygotes ARR et des femelles porteuses de l'allèle ARR.

Au plan génétique, la coordination générale du programme est assurée par un comité de pilotage, groupe technique de la CNAG, présidé par le Ministère de l'Agriculture. Ce comité de pilotage regroupe les différents représentants de la filière ovine, le laboratoire de référence pour les génotypes PrP

(LABOGENA) et les organismes scientifiques et techniques (INRA, Institut de l'Élevage) afin d'assurer différentes missions : définition des orientations du programme, suivi des actions réalisées et validation des programmes raciaux.

L'option a été prise de fonder ces plans de sélection sur le dispositif national d'amélioration génétique des animaux. Celui-ci est organisé par la Loi sur l'Élevage datant de 1966, et fait appel à un ensemble de structures dont la Commission Nationale pour l'Amélioration Génétique (CNAG) du Ministère de l'Agriculture qui organise les aides publiques pour ces actions de sélection et les UPRA, Unités Nationales de Promotion et de sélection des Races, rassemblant les éleveurs sélectionneurs, qui jouent un rôle moteur dans l'évolution génétique des races. Ce choix a été fait dans le souci de bénéficier de la technicité de ces acteurs (maîtrise des filiations, de l'enregistrement des performances, de la production de reproducteurs de qualité), de capitaliser les efforts de sélection réalisés (le génotypage de PrP étant restreint quand tous les reproducteurs des bases de sélection seront ARR/ARR) et de ne pas casser les circuits de diffusion du progrès génétique sur les caractères d'élevage classiques. Il n'interdit pas pour autant la mise en place d'actions de qualification des reproducteurs des élevages de production ou d'actions de multiplication des progrès obtenus chez les sélectionneurs.

Ces actions bénéficient d'outils déjà en place et primordiaux pour l'efficacité du plan : l'identification des animaux et l'enregistrement de leurs généalogies, et la capacité de génotypage à grande échelle. L'identification des animaux représente un atout indispensable pour capitaliser les actions de génotypage et suivre le mouvement des animaux. Toute cette information est stockée dans la base de données nationale du CTIG (Centre de traitement des informations génétiques) qui, récemment, vient d'intégrer l'information du génotypage PrP des animaux fournie par les laboratoires agréés par le Ministère de l'Agriculture. Au démarrage du plan, seul le GIE LABOGENA, impliqué depuis les premières actions de sélection pour la résistance à la tremblante au milieu des années 90, proposait une activité de génotypage à grande échelle, ce qui a permis l'application immédiate du plan à l'automne 2001. L'agrément de cinq nouveaux laboratoires en cours d'année 2002 met à disposition des utilisateurs, aujourd'hui, une capacité potentielle de 6000 à 7000 typages par semaine.

4. DEMARCHE ET APPLICATION

La démarche du plan s'articule autour de trois principes de base : sauvegarde de la variabilité génétique et du niveau génétique moyen, saturation du noyau de sélection par l'allèle ARR, diffusion de l'allèle ARR hors du noyau de sélection. Chaque principe implique la mise en place de moyens spécifiques, qui sont appliqués dans toutes les races. Toutefois, afin de prendre en compte les caractéristiques propres à chacune des races, des adaptations particulières ont été apportées. Pour chacun des principes présentés ci-après, il sera donc présenté d'abord les moyens d'actions communs à toutes les races, puis les modulations apportées en fonction des réalités des races et des schémas de sélection.

4.1. SAUVEGARDE DE LA VARIABILITÉ GÉNÉTIQUE ET DU NIVEAU GÉNÉTIQUE MOYEN DE LA RACE

En temps normal, le compromis entre progrès génétique à court terme et maintien de la variabilité génétique à long terme est difficile à établir dans une population sélectionnée. Avec un gène à déterminisme simple tel que le gène PrP, le danger est qu'il devienne le critère principal de sélection au détriment de la variabilité génétique et des autres caractères de production.

Pour pallier ce risque, l'option a été, dans un premier temps, de faire l'inventaire de la variabilité génétique disponible dans l'UPRA et de répartir les allèles de résistance en fonction de cette variabilité génétique. Concrètement, les mâles élites ont été génotypés et regroupés en « familles » d'après leurs informations généalogiques. Une fois ce bilan effectué, la

deuxième étape a consisté à mettre en place différentes actions pour préserver l'existant en terme de variabilité génétique et introduire de la résistance dans chacune des « familles » sensibles (non ARR/ARR) et à bonne valeur génétique. L'idée est que chaque mâle élite non ARR/ARR doit avoir un fils élite plus résistant que lui et au moins de même niveau génétique. Pour cela il est proposé :

- d'ajuster le nombre d'accouplements par mâle élite en fonction du nombre de candidats nécessaires à l'entrée en centre d'élevage, station de contrôle individuel ou en testage sur descendance ; et de typer tous ces fils destinés à entrer dans les structures collectives ;
- de diminuer la pression de sélection appliquée sur des critères non génétiques, souvent élevée, afin d'introduire cette nouvelle pression de sélection sur la résistance à la tremblante sans pénaliser les caractères de production ;
- de génotyper les femelles élites afin de réaliser des accouplements raisonnés en fonction de la résistance à la tremblante.

L'application de ce premier principe de base est modulé en fonction des caractéristiques de chaque race.

La première source de différence réside dans la **fréquence de l'allèle de résistance** chez les mâles élites et dans la population en sélection. L'exemple des races ovines laitières Lacaune et Manech tête rousse qui sont engagées dans un plan de sélection de résistance à la tremblante depuis la fin des années 90 et qui appliquent une gestion stricte du choix des mâles élites en fonction de la variabilité génétique et des index, met en évidence le fait que, pour des races assez résistantes, une sélection des caractères de production semble compatible avec des réponses assez rapides sur l'évolution favorable au gène PrP sans recours au typage des brebis élites à condition toutefois d'exercer la sélection sur PrP avant le testage (Barillet *et al*, 2002b). En effet, en race Lacaune (lait), la fréquence de l'allèle ARR des béliers d'IA nés de 1999 à 2002 a augmenté de 0,65 à 0,88. Par contre, pour les races sensibles comme, par exemple, les races Manech tête rousse, Blanc du Massif Central ou Mouton Vendéen, le choix a été de typer un grand nombre de femelles élites pour optimiser la gestion des accouplements raisonnés.

Dans le même objectif de disposer de mâles élites ARR/ARR le plus rapidement possible, la suppression provisoire du testage sur descendance est une solution pour des races où l'**intervalle de génération père-fils** est très important. Celui-ci varie de quatre à six ans dans les races ovines allaitantes ayant un testage sur descendance et peut être réduit à deux à trois ans sans testage sur descendance. La race Causses du Lot a adopté cette stratégie dès l'année 2000 et la race Préalpes du Sud la met en application depuis le printemps 2002.

Par ailleurs, la plupart des races ovines allaitantes utilisent **peu ou pas l'IA**. De ce fait, la gestion de la variabilité génétique ne peut pas se cantonner aux mâles d'IA et la réalisation d'accouplements raisonnés est limitée. Dans ce cas, il est envisagé d'appliquer le même type d'actions avec les mâles de monte naturelle identifiés dans les élevages et utilisés en lots de paternité, mais sans typage de femelles élites.

Le cas particulier **des races en voie de conservation** est très concerné par ce premier principe de base. En effet, la gestion de la variabilité génétique est un enjeu majeur pour ces races. Une réflexion est en cours avec les gestionnaires de ces races pour élaborer des stratégies adaptées à leurs spécificités.

4.2. SATURATION DU NOYAU DE SÉLECTION PAR L'ALLELE ARR

L'amélioration progressive de la résistance d'une race aux ESST passe par une augmentation de la fréquence de l'allèle ARR chez les reproducteurs. S'il n'existe pas d'effet de seuil, l'objectif devrait être que 100% des géniteurs mâles puis femelles soient ARR/ARR à une échéance à fixer par chaque UPRA. A noter par ailleurs qu'au départ du programme, l'augmentation de la fréquence de l'allèle ARR doit être concomitante à une élimination de l'allèle VRQ. En effet, une fréquence élevée de l'allèle VRQ représente un facteur de risque important. Un animal ARR/VRQ, bien que lui-même protégé contre la tremblante, peut transmettre l'allèle d'hypersensibi-

lité à sa descendance. Pour atteindre l'objectif de ce deuxième principe, le plan d'amélioration génétique de résistance à la tremblante comprend les actions suivantes :

- le génotypage de tous les mâles de monte naturelle présents dans les élevages sélectionneurs : il permet, d'une part, d'identifier les animaux à réformer rapidement, d'autant que l'élimination des animaux sensibles et leur remplacement par des animaux plus résistants sont sujet à indemnisation dans le cadre du plan 2002 ; d'autre part, d'orienter la structure génétique PrP du renouvellement femelle puisque ces mâles y contribuent fortement en tant que pères, dans les races ovines allaitantes principalement (en races laitières, le renouvellement femelles est surtout issu de pères d'IA) ;
- l'utilisation importante des mâles d'IA élités ARR/ARR (ou ARR/ARQ ou ARR/AHQ) pour augmenter la fréquence d'ARR des femelles du troupeau mais aussi des futurs reproducteurs mâles ;
- l'augmentation de la taille des structures collectives (centre d'élevage ou station de contrôle individuel) couplée au génotypage de tous les béliers avant ou à l'entrée, afin de pouvoir répondre à la demande accrue en béliers résistants de la part des centres d'IA et des éleveurs sélectionneurs suite à l'élimination des béliers sensibles ;
- le génotypage éventuel des agnelles de renouvellement afin d'accélérer la fixation de l'allèle ARR chez les reproducteurs femelles et/ou, dans un premier temps, l'élimination de l'allèle VRQ.

Ces actions, mises en place dans le but de saturer le noyau de sélection en allèle ARR, diffèrent selon la réalité des schémas et des races.

Il est évident que **la fréquence initiale de l'allèle ARR** conditionne fortement le temps nécessaire pour atteindre l'objectif. Toutefois, **la fréquence de l'allèle VRQ** a aussi beaucoup d'importance, puisque l'effort de sélection porte prioritairement sur l'élimination des animaux porteurs de cet allèle. Pour des races à très faibles fréquences d'ARR, où peu de reproducteurs mâles sont porteurs d'un allèle ARR et encore plus rarement de deux, des mâles de monte naturelle ARR/ARR de niveau génétique correct ont été placés en centres d'IA afin d'en faire une utilisation plus large que dans un élevage.

Par ailleurs, la réalisation des actions peut être limitée par des contraintes techniques : l'impossibilité d'augmenter **la taille des structures collectives**, qui peut toutefois être contournée par une entrée d'agneaux à une autre période de l'année, ou le **manque de main d'œuvre** pour génotyper les agnelles de renouvellement de tous les sélectionneurs.

Enfin, la saturation du noyau en ARR est d'autant plus rapide qu'il est possible de valoriser les informations de génotypage des ascendants pour prédire le génotype probable d'un individu. En races ovines laitières, l'accumulation de données sur les génotypes des béliers d'IA depuis le milieu des années 90 conjuguée à un fort **taux de paternités connues** (lié à l'utilisation importante de l'IA) permet de sélectionner des animaux, notamment les agnelles, sans coût de génotypage de celles-ci.

4.3. DIFFUSION DE L'ALLELE ARR HORS DU NOYAU DE SÉLECTION

A la vue des connaissances actuelles, la diffusion de l'allèle ARR permet d'améliorer la résistance à la tremblante (et probablement également à l'ESB) et de limiter le portage sain. Donc, dans le double objectif de contrôler l'expansion de l'épidémie ou d'aider les élevages déjà atteints, et de protéger le consommateur d'un risque potentiel de transmission d'une ESST en consommant de la viande ovine, la mise en œuvre idéale est l'utilisation exclusive de béliers ARR/ARR dans les élevages de production.

4.3.1. Pour les élevages atteints

Depuis mars 2002, les mesures de police sanitaire pour les élevages atteints de tremblante intègrent la démarche génétique, puisque le marquage des animaux à abattre est fondé sur leur génotype PrP. Les démarches sanitaire et génétique sont ainsi liées. **La présence de foyers de tremblante** dans une race donnée impose donc de faire face à ce troisième principe qui

apparaît alors comme prioritaire : satisfaire le besoin en renouvellement des élevages atteints, au minimum par la fourniture de béliers ARR/ARR, voire par la procréation de brebis au moins hétérozygotes ARR destinées à la reconstitution des élevages atteints à la suite de l'abattage des brebis marquées. Éradiquer ainsi la tremblante en quelques années dans les élevages atteints tout en maîtrisant l'entrée dans la chaîne alimentaire des produits de ces élevages constitue un objectif prioritaire aussi bien du point de vue de l'éleveur que du consommateur pour sécuriser la chaîne alimentaire ovine. Dans ces conditions, éradiquer les foyers de tremblante via la génétique constitue une priorité à court terme à laquelle les UPRA concernées doivent obligatoirement faire face. A noter que cette action concerne quelques dizaines d'élevages atteints de tremblante. Pour certaines UPRA, la constitution d'un « cheptel sanitaire » avec des béliers ARR/ARR peut devenir une obligation afin de mener de front ce troisième principe et les précédents. Ce cheptel « sanitaire » pourra être dispersé dans les élevages UPRA (simple repérage de béliers de MN) ou spécifiquement procréé et concentré par exemple dans un centre d'IA, à l'instar de ce qui a été réalisé en race Manech tête rousse (Barillet *et al.*, 2002a).

4.3.2. Pour tous les élevages de production

L'utilisation de béliers ARR/ARR dans tous les élevages ovins est l'objectif final du programme. Un tel principe s'appliquant à tous les élevages dont la très grande majorité est indemne de tremblante vise une précaution très élevée. Ce principe se décline en cinq actions principales :

- l'utilisation maximale des mâles élités ARR/ARR et des autres mâles d'IA ou mâles de monte naturelle ARR/ARR, sans entrer en concurrence avec les actions de sauvegarde de la variabilité génétique ;
- le génotypage d'un grand nombre de jeunes agneaux dans les élevages du noyau de sélection, destinés à être diffusés s'ils sont porteurs de résistance, directement depuis chez le sélectionneur ou après être passés en structure collective, selon les cas ;
- l'augmentation de la taille des structures collectives qui, en plus de l'intérêt discuté pour le deuxième principe, permet d'augmenter le pouvoir de diffusion des UPRA en béliers qualifiés ;
- l'approvisionnement prioritaire des centres d'IA en béliers ARR/ARR à la sortie des structures collectives, étant donné la forte capacité de diffusion d'un mâle d'IA par rapport à un mâle dans un élevage ;
- l'intégration dans le plan d'élevages connectés aux UPRA, déjà existants ou nouvellement recrutés, en tant que multiplicateurs de béliers ARR/ARR. Dans certaines races, la taille relative des bases de sélection (indépendamment de PrP) est sous-dimensionnée par rapport à la population, c'est pourquoi l'intégration de ces élevages permettrait d'augmenter la capacité de diffusion en mâles des UPRA et de satisfaire, à échéance raisonnable, l'approvisionnement de la population en béliers ARR/ARR. Elle peut aussi être envisagée de façon provisoire, pour les races à faible fréquence d'ARR, pour lesquelles une période de montée en charge est nécessaire (deuxième principe).

La modulation de l'application de ces actions s'explique principalement par deux facteurs caractéristiques des races.

En premier lieu, les bases de sélection présentent un panel très varié en terme de **diffusion de béliers**. D'un côté, les races « femelles » utilisées surtout en croisement terminal, c'est à dire les races rustiques allaitantes (à l'exception des races Blanc du Massif Central et Lacaune), ont une diffusion minime de béliers. Leur effort est alors focalisé sur le deuxième principe afin de pouvoir diffuser des agnelles porteuses de résistance. A l'opposé, les races bouchères doivent satisfaire la demande en béliers utilisés à la fois en race pure et en croisement, ce qui explique leur engagement fort dans l'application du troisième principe, d'autant que la plupart sont favorisées par une fréquence élevée d'ARR (0,7 à 0,8). Pour les trois races bouchères à faible fréquence d'ARR et très répandues (Charollais, Texel, Vendéen), une réflexion est en

cours avec les UPRA, les acteurs de la filière et le Ministère de l'Agriculture pour définir des modes d'actions spécifiques.

Ensuite, la faible ou la non utilisation de l'IA est un frein à la diffusion rapide de l'allèle ARR hors du noyau de sélection. Pour les races concernées, une des pratiques repose sur le prêt de béliers entre éleveurs, utilisé soit en monte naturelle soit par IA en sperme frais directement prélevé dans l'élevage. Toutefois, cette solution présente des limites dans la mesure où elle peut occasionner d'autres problèmes sanitaires.

Le plan d'amélioration génétique de la résistance à la tremblante est sur le point de terminer sa première campagne d'application. Derrière une démarche générale, on a vu que le plan comportait de nombreuses variantes selon les caractéristiques des races et des schémas de sélection. Ainsi, chaque race, représentée par son UPRA, a présenté son propre plan d'amélioration génétique de la résistance à la tremblante à la Commission ovine et caprine de la CNAG et a obtenu l'agrément pour l'année 2002. Le bilan de la première année en terme de typages s'élève à environ 75 000 animaux génotypés et financés dans le cadre du plan national.

Parallèlement à ces actions coordonnées par le Ministère de l'Agriculture, de nombreuses réflexions ont été entamées dans l'ensemble de la filière ovine sous l'égide de la FNCBV, des GIE, des Conseils Régionaux, des GDS,... Le but est de connecter ces démarches locales avec celles du plan national afin de capitaliser les efforts et les moyens financiers de tous les partenaires.

CONCLUSION

L'utilisation de l'outil génétique pour lutter contre les ESST permet d'améliorer de façon durable la résistance des ovins à ces pathologies. Mais l'amélioration génétique de la résistance à la tremblante (et à l'ESB) n'aura pas une efficacité immédiate du fait des délais de renouvellement des cheptels. Les unités de sélection doivent donc organiser les actions sur le long terme. Or, la première année d'application du plan a mis en évidence la nécessité d'une importante logistique pour intégrer ce nouveau caractère de sélection : génotypages, choix des reproducteurs, accouplements raisonnés, encadrement technique des éleveurs, ...

En terme de perspectives, d'abord sur le plan scientifique, la résistance universelle et l'absence de portage des ovins ARR/ARR à toutes les ESST doivent en permanence être vérifiées compte tenu d'éventuels contournements de résistance tels qu'observés pour d'autres pathologies. Il convient donc de prévoir une surveillance pérenne de la non apparition d'animaux ARR/ARR malades.

Sur le plan technique, la prise en compte de l'amélioration génétique de la résistance à la tremblante au sein des UPRA ou avec des organisations ou associations d'éleveurs, doit se poursuivre et s'optimiser afin d'accroître l'efficacité et la cohérence des actions réalisées, à moyens financiers fixés.

Andréoletti, O., Berthon, P., Marc, D., et al., 2000. J Gen Virol., 81., 3115-3126.

Barillet, F., Aguerre, X., Arranz, J.M., et al., 2002a. Options Méditerranéennes., à paraître.

Barillet, F., Andréoletti, O., Palhière, I., et al., 2002b.. Proc 7th WCGALP., Montpellier, France.

Belt, P.B.G.M., Muileman, I.H., Schreuder, B.E.C., et al., 1995. J Gen Virol 76., 509-517.

Bonnet, E., 1999. Mémoire de l'Institut Supérieur d'Agriculture de Rhône-Alpes., pp 52.

Bossers, A., Schreuder, B.E.C., Muileman, I.H., Belt, P.B.G.M., Smits, M.A., 1996. J Gen Virol 77., 2669-2673.

Bossers, A., Ruth de Vries., Smits, MA., 2001. J Virol 74 (3)., 1407-1414.

Bruce, ME., Chree, A., McConnell, I., Foster, J., Pearson, G., Fraser, H., 1994. Phil. Trans. R. Soc. Lond B., 343., 405-411.

Casu, S., 1998. Mémoire de DEA de Biologie des populations., Génétique et Eco-éthologie. Université de Tours., INAPG.

Cloucard, C., Beaudry, P., Elsen, JM., et al., 1995. J Gen Virol 76., 2097-2101.

Dawson, M., Hoinville, L., Hosie., Hunter, N., 1998. Vet Rec 142., 623-625.

DEFRA., 2001. Contingency plan. 28 septembre 2001., 50p

Detwiler, LA., 1996. 47th Annual meeting of the European Association for Animal production; Lillehammer., Norway 26-29 August., 1996.

Dickinson, AG., Stamp, JT., Renwick, CC., Rennie, JC., 1968. J Comp Pathol 78., 313-321.9

Dickinson, AG., 1976. In : Slow virus diseases of animals and man Ed RH Kimberlin. Amsterdam., Oxford : North-Holland Publishing Company 1976., 209-241.

Elsen, JM., Amigues, Y., Schelcher, F., et al., 1999. Arch Virol 144 : 431-445.

Elsen, JM., Barillet, F., François, D., Bouix, J., Bibé, B., Palhière, I., 2002. Bull GTV 13., 123-128.

Foster, JD., Dickinson, AG., 1988. Vet Rec 123., 5-8.

Foster, JD., Hunter, N., 1991. Vet Rec 128., 548-549.

Foster., JD., Parnham, DW., Hunter, N., Bruce, M., 2001. J Gen Virol 82., 2319-2326.

Goldman, W., Hunter, N., Smith, G., Foster, J., Hope, J., 1994. J Gen Virol 75., 989-995.

Hunter, N., Foster, JD., Dickinson, AG., Hope, J 1989. Vet Rec 124., 364-366.

Hunter, N., Hope, J., 1991. In : Breeding for Disease Resistance in Farm Animals ; Chap 19., pp 329-344.

Hunter, N., Foster, JD., Goldman, W., Stear, MJ., Hope, J., Bostock, C., 1996. Arch Virol 141., 809-824.

Ikeda, T., Horiuchi, M., Ishiguro, N., Muramatsu, Y., Kai-Uwe, GG., Shinagawa, M., 1995. J Gen Virol 76., 2577-2581

Jeffrey, M., Ryder, S., Martin, S., et al., 2001a. J Comp Pathol 124., 280-289.

Jeffrey, M., Martin, S., Thomson, JR., Dingwall, WS., Begara-McGorum, I., Gonzalez, L., 2001b. J Comp Pathol 125., 48-57.

Laplanche, JL., Chatelain, J., Westaway, D., Thomas, S., Dus-saucy, M., Brugère-Picoux, J., Launay., JM., 1993. Genomics 15., 30-37.

Roden, JA., Haresign, W., Anderson, JML., 2001. Proc Brit Soc Anim Sci., 45

Schreuder, BC., van Keulen, LJM., Vromans, MEW., Langeveld, JPM., Smits, MA., 1996. Nature 381., 563.

Schreuder, BC., van Keulen, LJM., Vromans, MEW., Langeveld, JPM., Smits, MA., 1998. Vet Rec 142., 564-568.

Sigurdarson, S., 1991. In Sub-acute Spongiform Encephalopathies 1991 ; Ed. R Bradley., M Savey et B Marchant., Dordrecht., Kluwer Academic., 233-242.

Smits, MA., et al., 2000. 51th Annual Meeting of the European Association for Animal Production., The Hague., August 21-24, 8 p.

Thorgeirsdottir, S., Sigurdarson, S., Hjalti Mar Thorisson, Georgsson, G., Palsdotti, A., 1999. J Gen Virol 80, 2527-34.