

F. SCHELCHER¹, O. ANDREOLETTI¹,
G. TABOURET¹, C. LACROUX¹,
G. FOUCRAS¹, F. EYCHENNE²,
P. BERTHON³, P. SARRADIN³,
F. LANTIER³, J.M. ELSEN⁴

¹ UMR INRA - ENVT Interactions Hôte -
Agents Pathogènes, 23 Chemin des
Capelles, F-31076 Toulouse Cedex 03

² INRA, Domaine de Langlade,
Pompertuzat, F-31450 Montgiscard

³ INRA, Station de Pathologie Infectieuse
et Immunologie, F-37380 Nouzilly

⁴ INRA, Station d'Amélioration
Génétique des Animaux, Chemin de
Borde-Rouge-Auzeville, BP 27, F-31326
Castanet-Tolosan Cedex

Courriel : f.schelcher@envt.fr

Pathogénèse des Encéphalopathies Spongiformes Transmissibles : apports du modèle ovin

Introduction

Les Encéphalopathies Spongiformes Transmissibles (EST) regroupent des maladies d'évolution chronique, à longue durée d'incubation, caractérisées par des lésions neurodégénératives et par l'accumulation

Résumé

Parmi les Encéphalopathies Spongiformes Transmissibles (EST), la tremblante du mouton est un modèle d'infection naturelle, caractérisé par la diversité des souches d'agent de transmission, par un rôle majeur des facteurs génétiques de réceptivité/sensibilité et par une transmission interindividuelle fréquente. La voie de contamination naturelle semble être orale. Chez des ovins génétiquement sensibles (PrP^{VRQ/VRQ}) (premiers symptômes observés vers 20 à 24 mois), la PrPsc a été détectée dans les plaques de Peyer iléales dès l'âge de 21 jours. L'ensemble des formations lymphoïdes secondaires est envahi entre l'âge de 3 et 6 mois. Dans les tissus lymphoïdes, la PrPsc s'accumule d'abord dans les cellules CD 68⁺ (cellules dendritiques ou macrophages) puis dans les cellules folliculaires dendritiques. A partir des plexus nerveux myentériques, la PrPsc gagnerait le système nerveux central par les nerfs sympathiques et parasympathiques. Les cellules de Schwann pourraient jouer un rôle majeur dans ce transfert. L'envahissement du névraxe débute vers 9 à 10 mois d'âge, dans le noyau dorsal du nerf vague et dans les segments médullaires T4-T9. A partir des organes lymphoïdes et/ou nerveux, la PrPsc contamine d'autres tissus en particulier placentaire et musculaire. Les modalités de contamination, sanguine *versus* nerveuse, restent hypothétiques. L'accumulation de PrPsc dans le trophoblaste placentaire de brebis infectées, est déterminée par le génotype PrP du fœtus. Dans les muscles d'ovins en phase d'incubation ou en phase clinique, la PrPsc est détectable dans des structures particulières, les fuseaux neuromusculaires, mais à des concentrations environ 5000 fois inférieures à celles détectées dans l'obex d'ovins en phase clinique. Chez les ovins, ces résultats (nature des tissus atteints, cinétique) sont étroitement dépendants du génotype PrP de l'hôte et probablement de la souche d'EST. L'extension à d'autres modèles animaux ou humains doit donc être réalisée avec prudence.

d'une protéine anormale, la PrPsc, isoforme d'une protéine normale, non pathogène, la PrPc. La PrPsc peut être considérée comme le seul marqueur moléculaire spécifique des EST (Mc Kinley *et al* 1983) et dans l'hypothèse « protein only » de Prusiner, comme l'agent causal de ces maladies (Prusiner 1982). Toutefois, certaines observations rapportent l'existence d'une infectiosité en l'absence de PrPsc détectable (Somerville *et al* 1996, Lasmézas *et al* 1997).

La tremblante ovine fut la première des EST naturelles décrites sur le plan clinique (Comber 1772), lésionnel (Besnoit et Morel 1898) et pour laquelle le caractère transmissible par inoculation fut démontré en conditions expérimentales (Cuillé et Chelle 1936). Dans les conditions naturelles, l'agent de la tremblante se transmet assez facilement d'un individu à l'autre. La transmission maternelle et la contamination horizontale semblent jouer un grand rôle, sans qu'il soit possible de les hiérarchiser. Dans ce domaine, les connaissances restent encore imprécises (Hoinville 1996, Detwiler et Baylis 2003).

La diversité des souches de tremblante repose sur différents arguments. Lors d'inoculation d'homogénats d'encéphale à diverses lignées murines, les durées d'incubation et les profils lésionnels conduisent à distinguer différents groupes d'isolats (Bruce *et al* 1994, Bruce *et al* 2002). La thermostabilité (Dickinson et Taylor 1978), les caractéristiques biochimiques de la protéine prion pathogène (PrPsc) (Kuczius et Groschup 1999) et sa répartition dans l'encéphale des

ovins malades (Benestad *et al* 2003) varient également selon les isolats.

La physiopathologie de la tremblante naturelle s'est construite sur plus d'un demi-siècle, par des apports successifs liés aux moyens d'investigations disponibles. L'existence d'un gène à effet majeur pour la réceptivité/sensibilité vis-à-vis des EST a été démontrée initialement pour la tremblante ovine (gène Sip pour Scrapie Incubation Period), par des expériences de sélection divergente (Dickinson *et al* 1968). Les polymorphismes du gène PrP, codant pour la protéine prion cellulaire (PrP_c), ont été mis en relation avec le statut clinique. Ainsi est apparu le rôle modulateur majeur de trois codons (136, 154 et 171) avec des allèles associés à la sensibilité (V¹³⁶R¹⁵⁴Q¹⁷¹, A¹³⁶R¹⁵⁴Q¹⁷¹, A¹³⁶R¹⁵⁴H¹⁷¹) et un allèle associé à la résistance (A¹³⁶R¹⁵⁴D¹⁷¹) (Laplanche *et al* 1993, Cloucard *et al* 1995, Hunter *et al* 1996).

Les premières études sur la pathogenèse de la tremblante dans le modèle ovin soulignaient l'infectiosité préclinique des tissus lymphoïdes et une infectiosité du système nerveux central contemporaine des symptômes, mais sans prendre en compte le génotype PrP des animaux étudiés (Hadlow *et al* 1982). La mise en évidence de la PrP_{sc} a permis d'utiliser ces données pour la mise au point de tests diagnostiques précliniques, à partir de biopsies d'amygdales (Schreuder *et al* 1996) ou de troisième paupière (O'Rourke *et al* 2000).

Notre objectif est de faire le point sur la pathogenèse de la tremblante ovine et les conséquences de ces travaux pour la connaissance des tissus infectés et des modalités de la transmission, en s'appuyant sur les données récentes obtenues en particulier par les équipes INRA.

1 / Phase de lymphoinvasion

1.1 / Contamination et plaques de Peyer

Chez les ovins exposés naturellement et de génotype VRQ/VRQ (très sensible) une accumulation de PrP_{sc} a pu être détectée dans les plaques de Peyer iléales, dès l'âge de 21 jours (Andréoletti *et al* 2002a). Les plaques de Peyer de l'intestin grêle distal jouent un rôle primordial comme porte d'entrée précoce, dans le modèle ovin exposé naturellement (Andréoletti *et al* 2000) ou expérimentalement (Heggebo *et al* 2000) à la tremblante, mais aussi chez des faons infectés expérimentalement par l'agent de la maladie du dépérissement chronique (Chronic Wasting Disease - CWD) (Sigurdson *et al* 1999), ou chez des bovins exposés par voie orale à l'agent de l'Encéphalopathie Spongiforme Bovine (ESB) (Wells *et al* 1996, Wells *et al* 1998).

La biologie des plaques de Peyer pourrait influencer notablement sur la réceptivité / sensibilité des ovins à la tremblante (Heggebo *et al* 2000). Chez les ovins âgés, l'atrophie de ces

formations lymphoïdes a des conséquences mal connues sur la tremblante.

A partir de cette porte d'entrée, la PrP_{sc} s'accumule rapidement dans l'ensemble des formations lymphoïdes digestives (Gut Associated Lymphoid Tissue - GALT - et nœuds lymphatiques de drainage) et extra-digestives, entre 2 et 6 mois d'âge pour des ovins VRQ/VRQ (très sensibles) exposés naturellement à la tremblante (Andréoletti *et al* 2000).

L'atteinte des formations lymphoïdes digestives est progressive et plus précoce que celle de la rate, située sur la circulation générale. Un tel phénomène suggère une contamination indépendante à partir de la lumière digestive, ou une recirculation spécifique du prion vers le GALT.

1.2 / Cibles cellulaires de la PrP_{sc}

A partir de la lumière intestinale, la prise en charge de l'agent de la tremblante, comme pour les bactéries ou les particules inertes, pourrait être réalisée par les cellules M (M pour microfold ; cellules épithéliales spécialisées dans la micropinocytose) (Beekes et McBride 2000, Heppner *et al* 2001).

Initialement, dans les plaques de Peyer d'ovins VRQ/VRQ, la PrP_{sc} est détectée sur des cellules exclusivement CD 68⁺, situées entre le lymphoépithélium spécialisé et les follicules (Andréoletti *et al* 2000, Andréoletti *et al* 2002b). Dans l'espèce ovine, l'antigène CD 68 est exprimé à la fois par les macrophages et les cellules dendritiques, qui seraient donc les cellules impliquées dans la diffusion de l'infection à ce stade. Ces deux types cellulaires sont spécialisés dans la capture, la dégradation et la présentation d'antigènes. Les cellules CD 68 transporteraiement la PrP_{sc} aux centres folliculaires germinatifs.

A un stade plus avancé, dans les plaques de Peyer d'ovins VRQ/VRQ, la PrP_{sc} est détectée dans le manteau et les cellules centrofolliculaires. Puis, alors que les dépôts de PrP_{sc} dans les dômes des plaques de Peyer diminuent, la PrP_{sc} est surtout détectée dans les cellules folliculaires dendritiques (Follicular Dendritic Cells - FDC), (Andréoletti *et al* 2000). L'accumulation de PrP_{sc} dans les cellules folliculaires dendritiques a été également observée en phase préclinique et clinique sur des ovins ARQ/ARQ (Heggebo *et al* 2002) et sur des cervidés atteints de maladie du dépérissement chronique (Sigurdson *et al* 2002).

Les données actuellement disponibles indiquent que les cellules folliculaires dendritiques jouent un rôle majeur dans l'établissement d'une infection pérenne dans les lymphocentres secondaires (Mabbott et Bruce 2001). Des quantités importantes de PrP_{sc} s'accumulent dans cette population cellulaire très tôt au cours de la phase d'invasion du système immunitaire (Brown *et al* 1999). Cependant, le rôle des cellules folliculaires dendritiques est, au moins partiellement,

remis en question. En effet, des souris transgéniques, sans cellules folliculaires dendritiques matures ni centres germinatifs, inoculées par voie intra-péritonéale avec une souche de tremblante, développent la maladie avec des titres élevés en prion dans les nœuds lymphatiques (Prinz *et al* 2002).

Le modèle ovin n'a pas apporté d'informations majeures sur le rôle des lymphocytes. La PrPsc n'a pas pu être détectée dans les lymphocytes T par double marquage immunohistochimique (Andréoletti *et al* 2002b). La codétection de la PrPsc et de marqueurs de lymphocytes B matures (CD 21) s'explique vraisemblablement par les interactions lymphocytes B-cellules folliculaires dendritiques (Andréoletti *et al* 2002b, Heggebo *et al* 2002, Sigurdson *et al* 2002).

1.3 / Dissémination à partir du tissu lymphoïde digestif

Dans le modèle ovin, des cellules PrPsc – positives, dont certaines de phénotype CD 68⁺, ont été identifiées dans les sinus sous corticaux des nœuds lymphatiques (Andréoletti *et al* 2000), et dans des sites extra-folliculaires spléniques (Heggebo *et al* 2002) ce qui suggère une recirculation des cellules phagocytaires mononucléées, porteuses de PrPsc. Les phagocytes mononucléés résidents, *in vitro* et *ex vivo*, pourraient assurer la capture et le transport de la PrPsc vers les centres germinatifs locaux et les autres lymphocentres (Aucouturier *et al* 2001, Huang *et al* 2002).

Toutefois, le rôle de ces cellules dans la dissémination efficace et à distance de la PrPsc reste encore mal connu. Les macrophages ne semblent pas capables de déplacements majeurs et les cellules dendritiques activées suivent un gradient chimotactique qui les oriente vers les centres germinatifs folliculaires. Par ailleurs, chez la souris inoculée par voie orale, une déplétion, même transitoire et partielle, des phagocytes mononucléés augmente sensiblement l'efficacité de la contamination (Beringue *et al* 2000). Ces données suggèrent un rôle potentiellement protecteur des phagocytes mononucléés. Au final, le rôle des phagocytes mononucléés tient probablement en partie à l'équilibre entre dégradation et néosynthèse de la PrPsc.

Dans un modèle ovin d'infection par la tremblante ou l'ESB par voie orale, le sang total prélevé en période d'incubation permet la transmission de la maladie par transfusion. L'infectiosité ne serait pas limitée aux fractions leucocytaires (buffy coat) du sang (Hunter *et al* 2002). Dans les modèles rongeurs, l'infectiosité serait principalement associée à la fraction mononucléée sanguine (Brown *et al* 1998, Brown *et al* 1999).

1.4 / Interactions souche de prion-génétique de l'hôte

Chez les ovins, quel que soit le mode de mise en évidence (transmission à la souris ou

détection de la PrPsc), les organes lymphoïdes sont le plus souvent considérés comme infectés en phase préclinique et clinique de tremblante (Hadlow *et al* 1982, Van Keulen *et al* 1996, Andréoletti *et al* 2000, Heggebo *et al* 2002). Cependant, le génotype PrP de l'hôte, la nature de la souche d'EST, et probablement les conditions d'exposition sont susceptibles de modifier plus ou moins profondément cet aspect de la pathogenèse.

Sur des ovins issus du même bélier, de la même cohorte de naissance, et élevés dans les mêmes conditions, la détection de PrPsc sur des biopsies séquentielles de tonsilles palatines était significativement plus tardive pour les animaux de génotype ARQ/VRQ (sensible) comparés aux animaux de génotype VRQ/VRQ (très sensible) (Tabouret *et al* 2003).

Sur des ovins ARQ/ARQ exposés naturellement mais dans un environnement différent de celui que nous avons utilisé, le schéma de dissémination est identique à celui que nous avons proposé mais beaucoup plus tardif (Jeffrey *et al* 2001a).

L'absence de détection de la PrPsc dans les tissus lymphoïdes, en phase clinique, a été relatée sur des ovins hétérozygotes ARR (allèle de résistance) (Van Keulen *et al* 1995), sur des ovins ARQ/VRQ issus des îles Shetland (Jeffrey *et al* 2002), sur des ovins de différents génotypes PrP (souvent avec l'allèle AHQ) et infectés par la souche NOR 98 (Benestad *et al* 2003).

Lors d'inoculation orale d'ovins ARQ/ARQ par l'agent de l'ESB, une accumulation de PrPsc a été observée dans les lymphocentres en phase préclinique (Jeffrey *et al* 2001b) et clinique (Foster *et al* 2001) alors que chez les bovins atteints d'ESB, aucune accumulation importante de PrPsc ou d'infectiosité n'a été retrouvée dans les organes lymphoïdes, à l'exception de l'iléon et de manière transitoire (Wells *et al* 1996, Wells *et al* 1998).

Ainsi la lymphoinvasion semble dépendre d'interactions spécifiques entre le génotype PrP et la souche d'EST. De plus, la lymphoinvasion n'est pas la condition sine qua non au développement de la maladie, même si elle semble accroître la réceptivité/sensibilité des animaux exposés. En effet, des ovins hétérozygotes ARR, exposés à une forte pression d'infection naturelle, ne sont atteints qu'avec une très faible incidence, comparée à des homozygotes ARQ ou VRQ (Elsen *et al* 1999). Cette faible incidence clinique pourrait être due, non à un défaut d'exposition, mais à l'absence d'amplification lymphoïde.

Des souris « Severe Combined Immuno-Deficiency » (SCID) (absence des populations lymphocytaires) sont réceptives à une souche de tremblante murinisée lors d'inoculation par voie orale (Lasmézas *et al* 1996). Par ailleurs, chez la souris, une splénectomie pratiquée avant l'inoculation orale, prolonge sensiblement la durée d'incubation (Fraser et Dickinson 1978), suggérant qu'une répllication lymphoïde primaire favorise la neuroinvasion.

2 / Phase de neuroinvasion

Le Système Nerveux Central (SNC) est l'organe cible des prions. La contamination du névraxe est théoriquement réalisable selon deux voies, la voie sanguine ou la voie nerveuse centripète. A l'heure actuelle si la première hypothèse ne peut être écartée, les arguments disponibles en particulier sur le modèle ovin, privilégient la seconde.

2.1 / Atteinte du système nerveux entérique

La motricité intestinale est assurée par des muscles contrôlés par un dense réseau de neurones disséminés dans la paroi intestinale. Ces neurones sont organisés en plexus sous muqueux et myentériques (désignés globalement par Système Nerveux Entérique - SNE), reliés anatomiquement et fonctionnellement aux centres nerveux sympathiques et parasympathiques du névraxe.

Dans le modèle ovin d'exposition naturelle à la tremblante, sur des animaux de génotype VRQ/VRQ, la PrPsc est détectée dans le SNE vers l'âge de neuf mois. La contamination des plexus semble se réaliser initialement dans les segments iléaux mais concerne l'ensemble des sites d'interface du tissu lymphoïde annexé au tube digestif et du système nerveux autonome (Andréoletti *et al* 2000). Dans la phase tardive d'incubation, la PrPsc est mise en évidence dans les neurones pariétaux, de l'œsophage au rectum (Van Keulen *et al* 1999).

Les follicules lymphoïdes dans la paroi digestive sont abondamment innervés par des fibres du système nerveux autonome en particulier sympathique, tout comme les follicules spléniques (Bencsik *et al* 2001). Le contact anatomique des terminaisons nerveuses est étroit avec les cellules folliculaires dendritiques, les lymphocytes et les macrophages (Heggebo *et al* 2003). L'hypothèse d'une contamination directe des fibres nerveuses du SNE à partir des cellules folliculaires dendritiques en particulier, semble très probable et a été très tôt évoquée dans le modèle murin (Kimberlin et Walker 1980).

Toutefois, sur des ovins hétérozygotes ARR (allèle de résistance) en phase clinique de tremblante après exposition naturelle, il est possible d'identifier des dépôts de PrPsc dans les neurones du SNE en l'absence de PrPsc détectable dans le lymphoïde.

2.2 / Dissémination au système nerveux central

Dans le modèle ovin, différents arguments plaident pour un envahissement du névraxe à partir des terminaisons digestives du système nerveux autonome.

Lors d'exposition naturelle d'ovins VRQ/VRQ, les premiers segments du névraxe où la PrPsc est détectable, sont le noyau dorsal du nerf vague et les segments thoraciques

moyens (T6-T8) de la moelle épinière, vers l'âge de 9 à 10 mois (Andréoletti *et al* 2000, Schelcher *et al* 2003). De plus, les premières zones médullaires positives sont les colonnes intermédio-latérales de la substance grise, où sont localisés les corps neuronaux des fibres sympathiques en connexion avec les viscères (Van Keulen *et al* 2000). Progressivement, les cornes dorsales et ventrales puis la substance blanche sont atteintes. Les interneurons joueraient probablement un rôle important dans la dissémination intra- et inter-segmentaire (Schelcher *et al* 2003).

La généralisation de l'infection à l'ensemble de la moelle procéderait majoritairement d'une contamination centripète via les terminaisons du système nerveux autonome progressivement atteintes dans la paroi digestive, et d'une contamination de proche en proche entre les segments médullaires adjacents. La moelle cervicale est atteinte en fin de période d'incubation ce qui suggère l'absence de diffusion à partir du bulbe et a des conséquences importantes pour le diagnostic. En phase de début d'envahissement du névraxe, la confirmation d'un résultat positif en PrPsc à partir de l'obex ne peut être réalisée à partir d'un échantillon de moelle cervicale.

Ce schéma de dissémination est retrouvé chez différentes espèces animales : la souris (Maignien *et al* 1999), le hamster (Mc Bride et Beekes 1999), ou les cervidés (Sigurdson *et al* 2001). Chez les bovins atteints d'ESB, l'absence de réplication apparente de l'agent dans le tissu lymphoïde soulève des questions sur la dissémination au SNC. Néanmoins, la cinétique de contamination du névraxe semblerait se superposer à celle décrite chez les ovins (Wells *et al* 1998).

Les mécanismes cellulaires de propagation de la PrPsc par les fibres nerveuses sont controversés. Le modèle ovin de tremblante a permis d'identifier de la PrPsc dans les cellules de Schwann (Andréoletti *et al* 2002b). La propagation ferait alors appel à un mécanisme de type « chute de dominos », basé sur la trans-conformation de proche en proche des molécules de PrPc présentes en grand nombre à la surface des cellules de Schwann (Follet *et al* 2002, Archer *et al* 2004). L'autre hypothèse serait un transport axonal (Bartz *et al* 2002).

3 / Contamination du placenta et transmission périnatale

En tremblante ovine, le rôle du placenta comme matière virulente est connu depuis longtemps (Pattison *et al* 1972, 1974). Toutefois, sur des brebis infectées, le placenta a pu être détecté positif puis négatif lors de gestations successives, sans explication satisfaisante (Race *et al* 1998). De plus, le risque de contamination serait accru pour les agneaux nés de mère infectée, sans données démonstratives d'une infection *in utero*. Des expériences d'introduction d'animaux sains dans des troupeaux contaminés ont claire-

ment démontré la possibilité d'une contamination latérale (Hoinville 1996, Detwiler et Baylis 2003).

Sur le modèle ovin d'exposition naturelle à la tremblante, en croisant le statut infectieux des brebis, évalué sur la présence ou non de PrPsc à partir de biopsies d'amygdales, et le génotype PrP des brebis et des béliers, la présence de PrPsc a été recherchée sur les placentas et différents tissus d'agneaux en fin de gestation et dans la période postnatale. Seuls les placentas des agneaux de génotype VRQ/VRQ, issus de brebis VRQ/VRQ et infectées, sont porteurs de PrPsc. Aucune mise en évidence de prion n'a été possible sur les placentas d'agneaux hétérozygotes ARR, issus de brebis infectées et VRQ/VRQ, ou sur les placentas d'agneaux VRQ/VRQ (tableau 1) et issus de brebis infectées et hétérozygotes ARR (Andréoletti *et al* 2002a, Tuo *et al* 2002, Lacroux *et al* 2003).

L'accumulation de PrPsc dans le placenta à la mise bas semble limitée au tissu cotylédonaire et aux cellules trophoblastiques uni ou multi nucléées, dont l'origine est foetale. Ainsi sur les brebis infectées de génotype sensible, c'est le génotype du fœtus qui conditionnerait la détection de PrPsc. Chez les brebis infectées et hétérozygotes ARR, l'absence de PrPsc dans le placenta des agneaux sensibles serait à rapporter à un défaut d'exposition de ces tissus. La question des modalités de la contamination placentaire, par voie hématogène ou nerveuse, n'a pu être évaluée. Par ailleurs, l'existence d'une infectiosité sans PrPsc détectable ne peut être formellement écartée dans ces travaux (Lasmézas *et al* 1997).

Les conséquences de la relation infection placentaire-génotype sont importantes sur le plan de la transmission. Le placenta est considéré comme la source majeure, même si elle n'est pas unique, de prion. Ainsi sur le plan de l'assainissement des troupeaux infectés, l'utilisation de béliers ARR/ARR pour la reproduction devrait avoir des effets fortement réducteurs de la pression d'infection.

Cependant, ces résultats ne peuvent pas être étendus tels quels à d'autres modèles animaux, compte tenu en particulier des dif-

férences de placentation et de l'importance des facteurs génétiques de susceptibilité.

Aucune trace de prion n'a été mise en évidence sur des tissus foetaux en relation avec la circulation placentaire, en fin de gestation et quand le placenta est positif en PrPsc. De plus, sur des agneaux sensibles VRQ/VRQ et issus de placentas positifs, la cinétique de contamination n'est que légèrement plus précoce, par rapport à des agneaux VRQ/VRQ issus de placentas négatifs et nés et élevés sur le même site. Ces observations suggèrent une transmission latérale post-natale très efficace (Andréoletti *et al* 2002a).

4 / Contamination des muscles d'ovins atteints de tremblante

La PrPsc a été détectée dans les muscles à partir de modèles murins expérimentaux (Bosque *et al* 2002), du modèle hamster (Thomzig *et al* 2003) ainsi que sur des patients atteints par la maladie de Creutzfeldt-Jakob sporadique (Glatzel *et al* 2003).

Sur le modèle ovin de tremblante et donc pour la première fois sur des muscles entrant dans la chaîne alimentaire humaine, la PrPsc a été mise en évidence sur des animaux génétiquement sensibles (génotypes VRQ/VRQ ou ARQ/ARQ) en phase préclinique et clinique, lors d'exposition naturelle ou expérimentale (inoculation orale ou intracérébrale), et par différentes techniques (Paraffin-Embedded Tissue blot (PET blot), Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA), Western blot).

Au sein des muscles, les structures accumulantes de la PrPsc ont été identifiées par immunohistochimie. Il s'agit de cellules musculaires spécialisées, abondamment innervées, qui renseignent l'organisme sur l'étirement musculaire et la position des muscles dans l'espace (fuseaux neuromusculaires) (figure 1). Dans le modèle utilisé, les quantités de PrPsc détectées dans le tissu musculaire sont, pour une masse équivalente de tissu, 5000 fois inférieures à celles détectées dans l'encéphale ou les nœuds lymph-

Tableau 1. Accumulation de PrPsc dans le placenta en fonction de la présence de PrPsc dans les amygdales de la brebis et du génotype PRP des brebis et des agneaux. Les agneaux ont été produits et élevés dans un élevage naturellement atteint de tremblante, après accouplements raisonnés entre brebis et béliers de génotype résistant ou sensible.

Génotype PRP de la brebis (nombre)	Biopsie d'amygdale présence de PrPsc	Génotype PRP du bélier	Génotype PRP de l'agneau	PrPsc dans le placenta
ARQ/VRQ (n = 9)	+	VRQ/VRQ	ARQ/VRQ (n = 7), VRQ/VRQ (n = 6)	+
ARQ/VRQ (n = 3)	-	VRQ/VRQ	ARQ/VRQ (n = 1), VRQ/VRQ (n = 4)	-
ARQ/VRQ (n = 5)	+	ARR/ARR	ARR/ARQ (n = 3), ARR/VRQ (n = 5)	-
ARQ/VRQ (n = 3)	-	ARR/ARR	ARR/ARQ (n = 4), ARR/VRQ (n = 4)	-
ARR/ARR (n = 5)	-	VRQ/VRQ	ARR/VRQ (n = 5)	-
ARR/ARR (n = 6)	-	ARR/ARR	ARR/ARR (n = 9)	-
ARR/VRQ (n = 5)	-	VRQ/VRQ	VRQ/VRQ (n = 4), ARR/VRQ (n = 7)	-

Figure 1. Détection de la PrP^{Sc} dans un fuseau neuromusculaire par immunohistochimie (ovin, VRQ/VRQ, 12 mois, langue anticorps 8G8. G400)



tiques d'ovins en phase clinique de la maladie (Andréoletti *et al* 2004).

Les quantités de protéine prion anormale sont extrêmement faibles et rendent très improbable l'hypothèse d'une transmission par voie alimentaire à l'homme. Le risque additionnel que représenterait pour l'homme la consommation de muscle d'ovins infectés apparaît négligeable face aux quantités de prion potentiellement contenues dans d'autres tissus. En outre, il paraît essentiel de rappeler que dans les conditions naturelles

d'exposition, la tremblante ovine n'est apparemment pas transmissible à l'homme.

Aucune accumulation de PrP^{Sc} n'a été détectée dans les muscles des ovins de génotype ARR/ARR, considérés comme très peu sensibles aux maladies à prion.

Ces résultats, obtenus dans le modèle ovin atteint par une souche de tremblante naturelle, ne peuvent aucunement être extrapolés au cas des bovins infectés par l'ESB.

Conclusion

Au sein des EST, l'importance du modèle ovin est liée à la santé humaine (dans l'hypothèse d'une transmission de l'agent de l'ESB aux ovins), à la santé animale (compte tenu de la fréquence de la tremblante et de ses conséquences économiques), à la pathologie comparée.

Dans ce dernier domaine, les ovins constituent un modèle particulièrement intéressant pour ses capacités à fournir de grandes quantités de cellules immunitaires, ainsi que pour les études sur la présence de prion dans différents tissus.

Toutefois, compte tenu de la diversité des souches d'agent infectieux et de leurs interactions potentielles avec le génotype PrP de l'hôte, une certaine prudence est nécessaire pour l'interprétation des données obtenues ainsi que pour leur transposition à d'autres modèles humains ou animaux. Par ailleurs, certains des résultats obtenus sur les rongeurs de laboratoire méritent probablement d'être validés sur l'espèce cible, en particulier pour une utilisation opérationnelle.

Références

- Andréoletti O., Berthon P., Marc D., Sarradin P., Grosclaude J., van Keulen L., Schelcher F., Elsen J.M., Lantier F., 2000. Early accumulation of PrP(Sc) in gut-associated lymphoid and nervous tissues of susceptible sheep from a Romanov flock with natural scrapie. *Journal of General Virology*, 81, 3115-3126.
- Andréoletti O., Lacroux C., Chabert A., Monnereau L., Tabouret G., Lantier F., Berthon P., Eychemme F., Lafond-Benestad S., Elsen J.M., Schelcher F., 2002a. PrP(Sc) accumulation in placentas of ewes exposed to natural scrapie: influence of foetal PrP genotype and effect on ewe-to-lamb transmission. *Journal of General Virology*, 83, 2607-2616.
- Andréoletti O., Berthon P., Levavasseur E., Marc D., Lantier F., Monks E., Elsen J.M., Schelcher F., 2002b. Phenotyping of protein-prion (PrP^{Sc})-accumulating cells in lymphoid and neural tissues of naturally scrapie-affected sheep by double-labeling immunohistochemistry. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 50, 1357-1370.
- Andréoletti O., Simon S., Lacroux C., Morel N., Tabouret G., Chabert A., Lugin S., Corbiere F., Ferre P., Foucras G., Laude H., Eychemme F., Grassi J., Schelcher F., 2004. PrP(Sc) accumulation in myocytes from sheep incubating natural scrapie. *Nature Medicine*, 10, 591-593.
- Archer F., Bachelin C., Andréoletti O., Besnard N., Perrot G., Langevin C., Le Dur A., Vilette D., Baron-Van Evercooren A., Vilotte J.L., Laude H., 2004. Cultured peripheral neuroglial cells are highly permissive to sheep prion infection. *Journal of Virology*, 78, 482-490.
- Aucouturier P., Geissmann F., Damotte D., Saborio G.P., Meeker H.C., Kascsak R., Kascsak R., Carp R.I., Wisniewski T., 2001. Infected splenic dendritic cells are sufficient for prion transmission to the CNS in mouse scrapie. *Journal of Clinical Investigation*, 108, 703-708.
- Bartz J.C., Kincaid A.E., Bessen R.A., 2002. Retrograde transport of transmissible mink encephalopathy within descending motor tracts. *Journal of Virology*, 76, 5759-5768.
- Beekes M., McBride P.A., 2000. Early accumulation of pathological PrP in the enteric nervous system and gut-associated lymphoid tissue of hamsters orally infected with scrapie. *Neuroscience Letters*, 278, 181-184.
- Bencsik A., Lezmi S., Baron T., 2001. Autonomic nervous system innervation of lymphoid territories in spleen: a possible involvement of noradrenergic neurons for prion neuroinvasion in natural scrapie. *Journal of Neurovirology*, 7, 447-453.
- Benestad S.L., Sarradin P., Thu B., Schonheit J., Tranulis M.A., Bratberg B., 2003. Cases of scrapie with unusual features in Norway and designation of a new type, Nor98. *Veterinary Record*, 153, 202-208.
- Beringue V., Lamoury F., Adjou K.T., Maignien T., Demoy M., Couvreur P., Dormont D., 2000. Pharmacological manipulation of early PrP^{Sc} accumulation in the spleen of scrapie-infected mice. *Archives of Virology Supplementum*, 39-56.
- Besnoit C., Morel C., 1898. Note sur les lésions nerveuses de la tremblante du mouton. *Revue Vétérinaire*, 23, 397-400.
- Bosque P.J., Ryou C., Telling G., Peretz D., Legname G., DeArmond S.J., Prusiner S.B., 2002. Prions in skeletal

muscle. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, 99, 3812-3817.

Brown K.L., Stewart K., Ritchie D.L., Mabbott N.A., Williams A., Fraser H., Morrison W.I., Bruce M.E., 1999. Scrapie replication in lymphoid tissues depends on prion protein-expressing follicular dendritic cells. *Nature Medicine*, 5, 1308-1312.

Brown P., Rohwer R.G., Dunstan B.C., MacAtuley C., Gajdusek D.C., Drohan W.N., 1998. The distribution of infectivity in blood components and plasma derivatives in experimental models of transmissible spongiform encephalopathy. *Transfusion*, 38, 810-816.

Brown P., Cervenakova L., McShane L.M., Barber P., Rubenstein R., Drohan W.N., 1999. Further studies of blood infectivity in an experimental model of transmissible spongiform encephalopathy, with an explanation of why blood components do not transmit Creutzfeldt-Jakob disease in humans. *Transfusion*, 39, 1169-1178.

Bruce M., Chree A., McConnell I., Foster J., Pearson G., Fraser H., 1994. Transmission of bovine spongiform encephalopathy and scrapie to mice: strain variation and the species barrier. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B Biological Sciences*, 343, 405-411.

Bruce M.E., Boyle A., Cousens S., McConnell I., Foster J., Goldmann W., Fraser H., 2002. Strain characterization of natural sheep scrapie and comparison with BSE. *Journal of General Virology*, 83, 695-704.

Cloucard C., Beaudry P., Elsen J.M., Milan D., Dussaucy M., Bounneau C., Schelcher F., Chatelain J., Launay J.M., Laplanche J.L., 1995. Different allelic effects of the codons 136 and 171 of the prion protein gene in sheep with natural scrapie. *Journal of General Virology*, 76, 2097-2101.

Comber T., 1772. Real improvements in agriculture (on the principles of A. Young, Esq). Letters to Reade Peacock, Esq. and to Dr Hunter, Physician in York, concerning the rickets in sheep. Nicoll, London, pp.73-83.

Cuillé J., Chelle P.-L., 1936. La maladie dite "tremblante" du mouton est-elle inoculable ? *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, 203, 1552.

Detwiler L.A., Baylis M., 2003. The epidemiology of scrapie. *Revue Scientifique et Technique*, 22, 121-143.

Dickinson A.G., Meikle V.M., Fraser H., 1968. Identification of a gene which controls the incubation period of some strains of scrapie agent in mice. *Journal of Comparative Pathology*, 78, 293-299.

Dickinson A.G., Taylor D.M., 1978. Resistance of scrapie agent to decontamination. *New England Journal of Medicine*, 299, 1413-1414.

Elsen J.M., Amigues Y., Schelcher F., Ducrocq V., Andreoletti O., Eychenne F., Khang J.V., Poivey J.P., Lantier F., Laplanche J.L., 1999. Genetic susceptibility and transmission factors in scrapie: detailed analysis of an epidemic in a closed flock of Romanov. *Archives of Virology*, 144, 431-445.

Follet J., Lemaire-Vieille C., Blanquet-Grossard F., Podevin-Dimster V., Lehmann S., Chauvin J.P., Decavel J.P., Varea R., Grassi J., Fontes M., Cesbron J.Y., 2002. PrP expression and replication by Schwann cells: implications in prion spreading. *Journal of Virology*, 76, 2434-2439.

Foster J.D., Parnham D.W., Hunter N., Bruce M., 2001. Distribution of the prion protein in sheep terminally affected with BSE following experimental oral transmission. *Journal of General Virology*, 82, 2319-2326.

Fraser H., Dickinson A.G., 1978. Studies of the lymphoreticular system in the pathogenesis of scrapie: the role of spleen and thymus. *Journal of Comparative Pathology*, 88, 563-573.

Glatzel M., Abela E., Maissen M., Aguzzi A., 2003. Extranuclear pathologic prion protein in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *New England Journal of Medicine*, 349, 1812-1820.

Hadlow W.J., Kennedy R.C., Race R.E., 1982. Natural infection of Suffolk sheep with scrapie virus. *Journal of Infectious Diseases*, 146, 657-664.

Heggebo R., Press C.M., Gunnes G., Lie K.I., Tranulis M.A., Ulvund M., Groschup M.H., Landsverk T., 2000. Distribution of prion protein in the ileal Peyer's patch of

scrapie-free lambs and lambs naturally and experimentally exposed to the scrapie agent. *Journal of General Virology*, 81, 2327-2337.

Heggebo R., Press C.M., Gunnes G., Gonzalez L., Jeffrey M., 2002. Distribution and accumulation of PrP in gut-associated and peripheral lymphoid tissue of scrapie-affected Suffolk sheep. *Journal of General Virology*, 83, 479-489.

Heggebo R., Gonzalez L., Press C.M., Gunnes G., Espenes A., Jeffrey M., 2003. Disease-associated PrP in the enteric nervous system of scrapie-affected Suffolk sheep. *Journal of General Virology*, 84, 1327-1338.

Heppner F.L., Christ A.D., Klein M.A., Prinz M., Fried M., Kraehenbuhl J.P., Aguzzi A., 2001. Transepithelial prion transport by M cells. *Nature Medicine*, 7, 976-977.

Hoinville L.J., 1996. A review of the epidemiology of scrapie in sheep. *Revue Scientifique et Technique*, 15, 827-852.

Huang F.P., Farquhar C.F., Mabbott N.A., Bruce M.E., MacPherson G.G., 2002. Migrating intestinal dendritic cells transport PrP(Sc) from the gut. *Journal of General Virology*, 83, 267-271.

Hunter N., Foster J.D., Goldmann W., Stear M.J., Hope J., Bostock C., 1996. Natural scrapie in a closed flock of Cheviot sheep occurs only in specific PrP genotypes. *Archives of Virology*, 141, 809-824.

Hunter N., Foster J., Chong A., McCutcheon S., Parnham D., Eaton S., MacKenzie C., Houston F., 2002. Transmission of prion diseases by blood transfusion. *Journal of General Virology*, 83, 2897-2905.

Jeffrey M., Martin S., Thomson J.R., Dingwall W.S., Begara-McGorum I., Gonzalez L., 2001a. Onset and distribution of tissue prp accumulation in scrapie-affected Suffolk sheep as demonstrated by sequential necropsies and tonsillar biopsies. *Journal of Comparative Pathology*, 125, 48-57.

Jeffrey M., Ryder S., Martin S., Hawkins S.A., Terry L., Berthelin-Baker C., Bellworthy S.J., 2001b. Oral inoculation of sheep with the agent of bovine spongiform encephalopathy (BSE). 1. Onset and distribution of disease-specific PrP accumulation in brain and viscera. *Journal of Comparative Pathology*, 124, 280-289.

Jeffrey M., Begara-McGorum I., Clark S., Martin S., Clark J., Chaplin M., Gonzalez L., 2002. Occurrence and distribution of infection-specific PrP in tissues of clinical scrapie cases and cull sheep from scrapie-affected farms in Shetland. *Journal of Comparative Pathology*, 127, 264-273.

Kimberlin R.H., Walker C.A., 1980. Pathogenesis of mouse scrapie: evidence for neural spread of infection to the CNS. *Journal of General Virology*, 51, 183-187.

Kuczius T., Groschup M.H., 1999. Differences in proteinase K resistance and neuronal deposition of abnormal prion proteins characterize bovine spongiform encephalopathy (BSE) and scrapie strains. *Molecular Medicine*, 5, 406-418.

Lacroux C., Andréoletti O., Chabert A., Monnereau L., Tabouret G., Lantier F., Berthon P., Eychenne F., Elsen J.M., Schelcher F., 2003. Accumulation de la PrPsc dans le placenta de brebis naturellement exposées à la tremblante : influence du génotype de l'agneau et effet sur la transmission materno-fœtale. *Séminaire INRA ESST, Le Croisic*, 26-28 février 2003.

Laplanche J.L., Chatelain J., Westaway D., Thomas S., Dussaucy M., Brugere-Picoux J., Launay J.M., 1993. PrP polymorphisms associated with natural scrapie discovered by denaturing gradient gel electrophoresis. *Genomics*, 15, 30-37.

Lasmezas C.I., Deslys J.P., Demaimay R., Adjou K.T., Hauw J.J., Dormont D., 1996. Strain specific and common pathogenic events in murine models of scrapie and bovine spongiform encephalopathy. *Journal of General Virology*, 77, 1601-1609.

Lasmezas C.I., Deslys J.P., Robain O., Jaegly A., Beringue V., Peyrin J.M., Fournier J.G., Hauw J.J., Rossier J., Dormont D., 1997. Transmission of the BSE agent to mice in the absence of detectable abnormal prion protein. *Science*, 275, 402-405.

Mabbott N.A., Bruce M.E., 2001. The immunobiology of TSE diseases. *Journal of General Virology*, 82, 2307-2318.

Maignien T., Lasmezas C.I., Beringue V., Dormont D., Deslys J.P., 1999. Pathogenesis of the oral route of infection of mice with scrapie and bovine spongiform encephalopathy agents. *Journal of General Virology*, 80, 3035-3042.

McBride P.A., Beekes M., 1999. Pathological PrP is abundant in sympathetic and sensory ganglia of hamsters fed with scrapie. *Neuroscience Letters*, 265, 135-138.

McKinley M.P., Bolton D.C., Prusiner S.B., 1983. A protease-resistant protein is a structural component of the scrapie prion. *Cell*, 35, 57-62.

O'Rourke K.I., Baszler T.V., Besser T.E., Miller J.M., Cutlip R.C., Wells G.A., Ryder S.J., Parish S.M., Hamir A.N., Cockett N.E., Jenny A., Knowles D.P., 2000. Preclinical diagnosis of scrapie by immunohistochemistry of third eyelid lymphoid tissue. *Journal of Clinical Microbiology*, 38, 3254-3259.

Pattison I.H., Hoare M.N., Jebbett J.N., Watson W.A., 1972. Spread of scrapie to sheep and goats by oral dosing with foetal membranes from scrapie-affected sheep. *Veterinary Record*, 90, 465-468.

Pattison I.H., Hoare M.N., Jebbett J.N., Watson W.A., 1974. Further observations on the production of scrapie in sheep by oral dosing with foetal membranes from scrapie-affected sheep. *British Veterinary Journal*, 130, 65-68.

Prinz M., Montrasio F., Klein M.A., Schwarz P., Priller J., Odermatt B., Pfeffer K., Aguzzi A., 2002. Lymph nodal prion replication and neuroinvasion in mice devoid of follicular dendritic cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 99, 919-924.

Prusiner S.B., Bolton D.C., Groth D.F., Bowman K.A., Cochran S.P., McKinley M.P., 1982. Further purification and characterization of scrapie prions. *Biochemistry*, 21, 6942-6950.

Race R., Jenny A., Sutton D., 1998. Scrapie infectivity and proteinase K-resistant prion protein in sheep placenta, brain, spleen, and lymph node: implications for transmission and antemortem diagnosis. *Journal of Infectious Diseases*, 178, 949-953.

Schelcher F., Levavasseur E., Lacroux C., Tabouret G., Berthon P., Lantier F., Elsen J.M., Andréoletti O., 2003. Dynamique de la neuroinvasion dans un modèle naturel de tremblante ovine. *Séminaire INRA ESST, Le Croisic*, 26-28 février 2003.

Schreuder B.E., van Keulen L.J., Vromans M.E., Langeveld J.P., Smits M.A., 1996. Preclinical test for prion diseases. *Nature*, 381, 563.

Sigurdson C.J., Williams E.S., Miller M.W., Spraker T.R., O'Rourke K.I., Hoover E.A., 1999. Oral transmission and early lymphoid tropism of chronic wasting disease PrPres in mule deer fawns (*Odocoileus hemionus*). *Journal of General Virology*, 80, 2757-2764.

Sigurdson C.J., Spraker T.R., Miller M.W., Oesch B., Hoover E.A., 2001. PrP(CWD) in the myenteric plexus,

vagosympathetic trunk and endocrine glands of deer with chronic wasting disease. *Journal of General Virology*, 82, 2327-2334.

Sigurdson C.J., Barillas-Mury C., Miller M.W., Oesch B., van Keulen L.J., Langeveld J.P., Hoover E.A., 2002. PrP(CWD) lymphoid cell targets in early and advanced chronic wasting disease of mule deer. *Journal of General Virology*, 83, 2617-2628.

Somerville R.A., Dunn A.J., 1996. The association between PrP and infectivity in scrapie and BSE infected mouse brain. *Archives of Virology*, 141, 275-289.

Tabouret G., Andréoletti O., Louche A., Lacroux C., Chabert A., Elsen J.M., Eychenne F., Schelcher F., 2003. Effet du polymorphisme en 136 du gène PrP sur la dynamique d'infection de la tremblante dans un modèle naturel de tremblante ovine. *Séminaire INRA ESST, Le Croisic*, 26-28 février 2003.

Thomzig A., Kratzel C., Lenz G., Kruger D., Beekes M., 2003. Widespread PrPSc accumulation in muscles of hamsters orally infected with scrapie. *EMBO Reports*, 4, 530-533.

Tuo W., O'Rourke K.I., Zhuang D., Cheevers W.P., Spraker T.R., Knowles D.P., 2002. Pregnancy status and fetal prion genetics determine PrPSc accumulation in placentomes of scrapie-infected sheep. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 99, 6310-6315.

Van Keulen L.J., Schreuder B.E., Meloen R.H., Poelen-van den Berg M., Mooij-Harkes G., Vromans M.E., Langeveld J.P., 1995. Immunohistochemical detection and localization of prion protein in brain tissue of sheep with natural scrapie. *Veterinary Pathology*, 32, 299-308.

Van Keulen L.J., Schreuder B.E., Meloen R.H., Mooij-Harkes G., Vromans M.E., Langeveld J.P., 1996. Immunohistochemical detection of prion protein in lymphoid tissues of sheep with natural scrapie. *Journal of Clinical Microbiology*, 34, 1228-1231.

Van Keulen L.J., Schreuder B.E., Vromans M.E., Langeveld J.P., Smits M.A., 1999. Scrapie-associated prion protein in the gastrointestinal tract of sheep with natural scrapie. *Journal of Comparative Pathology*, 121, 55-63.

Van Keulen L.J., Schreuder B.E., Vromans M.E., Langeveld J.P., Smits M.A., 2000. Pathogenesis of natural scrapie in sheep. *Archives of Virology Supplementum*, 57-71.

Wells G.A., Dawson M., Hawkins S.A.C., Austin A.R., Green R.B., Dexter I., Horigan M.W., Simmons M.M., 1996. Preliminary observations on the pathogenesis of experimental bovine spongiform encephalopathy. In: Gibbs C.J. (Ed.), *Bovine Spongiform Encephalopathy - The BSE dilemma*. Springer, pp. 28-44.

Wells G.A., Hawkins S.A., Green R.B., Austin A.R., Dexter I., Spencer Y.I., Chaplin M.J., Stack M.J., Dawson M., 1998. Preliminary observations on the pathogenesis of experimental bovine spongiform encephalopathy (BSE): an update. *Veterinary Record*, 142, 103-106.

Abstract

Pathogenesis of Transmissible Spongiform Encephalopathies: data from the scrapie model

Among Transmissible Spongiform Encephalopathies (TSE), scrapie in sheep represents a model of natural infection, which is characterised by a panel of diverse strains of the prion, by the major role played by genetic determinants controlling sensibility and susceptibility, and by a frequent inter-individual transmission. Contamination occurs mainly by the oral route. In genetically predisposed animals (PrP^{VRQ/VRQ}) (the first clinical signs are detected between 20 and 24 months), the PrP^{Sc} protein has been detected in the ileal Peyer patches as early as the 21st day of age. Most of the secondary lymphoid structures become contaminated after 3 to 6 months. In the lymphoid tissues, PrP^{Sc} accumulates first in CD68⁺ cells (dendritic cells or macrophages), then in follicular dendritic cells. From the myenteric nervous plexus, PrP^{Sc} may reach the cen-

tral nervous system via sympathetic and parasympathetic nerves. Schwann cells may be at play during this transfer. Spinal cord invasion begins at about the age of 9 to 10 months, in the dorsal node of the vagus nerve, and the T4-T9 medullary segments. From the lymphoid and nervous organs, PrP^{Sc} contaminates other tissues, in particular the placenta and the muscles. The mode of dissemination, through the blood stream or nervous tissue, remains evasive. In the placenta of infected ewes, PrP^{Sc} accumulation in the trophoblast cells is controlled by the genotype of the fetus. In the muscles, during the incubation and clinical phases, PrP^{Sc} can be detected in particular structures, the neuromuscular tubes, at concentrations which are 5000-fold lower than those measured in the obex of clinically affected animals. For scrapie, these data (sites of replication, kinetics) are strongly related to the PrP genotype of the host and probably to the prion strain. Generalisation to other animal or human situations should be cautious.