

J.M. ELSÉN, F. BARILLET,
J. VU TIEN KHANG, F. SCHELCHER *,
Y. AMIGUES **, J.L. LAPLANCHE ***,
J.P. POIVEY, F. EYCHENNE

INRA Station d'Amélioration Génétique
des Animaux, BP 27,
31326 Castanet-Tolosan Cedex

* Ecole Nationale Vétérinaire, 31076 Toulouse Cedex

** Labogena, 78352 Jouy-en-Josas

*** Hôpital Saint-Lazare, Laboratoire de Biochimie,
75475 Paris Cedex 10

Génétique de la sensibilité à la tremblante ovine : recherches en cours et perspectives

La tremblante du mouton, ou scrapie, est une encéphalopathie spongiforme de même type que l'ESB des bovins. Si la nature de(s) l'agent(s) pathogène(s) et les voies de transmission de la maladie ne sont pas connus avec certitude, en revanche, l'existence d'un contrôle génétique de la sensibilité à la tremblante est bien établie. Cela ouvre la voie à une possible sélection génétique pour diminuer l'incidence de la maladie, mais pose notamment la question de la transmission de la maladie par des animaux résistants.

Plusieurs espèces animales sont affectées par les encéphalopathies subaiguës spongiformes transmissibles (ESST). Les bovins, avec l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) ou « maladie des vaches folles » et les ovins, avec la tremblante (cf. encadré 1), sont les espèces les plus touchées. Ces maladies ont aussi été observées chez les chèvres, les chats et des animaux sauvages libres (cerfs, wapitis) ou en captivité (ruminants, visons et félidés). En outre, des cas d'ESST ont pu être reproduits expérimentalement dans d'autres espèces, notamment les primates, le porc et des petits rongeurs.

La composante héréditaire de la sensibilité aux ESST est clairement démontrée, pour cer-

taines de ces pathologies, chez l'homme et, en conditions expérimentales, chez la souris. La possibilité d'un tel contrôle génétique a été étudiée chez les ruminants. Alors qu'aucun argument solide ne permet à ce jour d'affirmer l'existence d'une variabilité génétique de la sensibilité à la « maladie des vaches folles », un contrôle génétique de la sensibilité à la tremblante ovine a été clairement mis en évidence.

Après un aperçu sur l'état des connaissances en la matière, et notamment sur les résultats obtenus par des équipes françaises, nous tenterons de montrer comment, et à quelles conditions, une stratégie génétique pourrait contribuer à lutter contre la tremblante ovine.

Résumé

Dans plusieurs espèces (homme, souris, mouton), la sensibilité aux encéphalopathies spongiformes subaiguës transmissibles (ESST) est largement contrôlée par le génotype de l'hôte. Une part majeure de la variabilité génétique observée vient d'un gène, dont plusieurs arguments permettent de penser qu'il s'agit du gène *Prn-p* codant pour la protéine prion PrP, qui pourrait, selon certains auteurs, être l'agent causal de ces pathologies ou être associé à ce dernier. L'analyse moléculaire de la structure du gène *Prn-p* chez le mouton montre la ségrégation d'allèles différant les uns des autres par une mutation ponctuelle. Une sélection pour la résistance à la tremblante, basée sur des analyses en laboratoire du gène *Prn-p*, est donc envisageable dans cette espèce. La mise en place d'une telle sélection pose cependant plusieurs problèmes théoriques et pratiques : les animaux résistants pourraient-ils constituer un réservoir d'infection ? Les animaux résistants à une souche de tremblante pourraient-ils se révéler sensibles à une autre ? Le coût de cette sélection est-il acceptable ? Comment l'organiser au mieux ?

1 / Etat des connaissances sur la génétique de la sensibilité à la tremblante ovine

1.1 / Sensibilité génétique des ovins à la tremblante expérimentale

A partir de 1961, des expériences de sélection intra-race sur la résistance à la tremblante expérimentale ont été mises en œuvre à Edimbourg (Neuropathogenesis Unit, NPU) dans les races Cheviot et Herdwick puis, en

Quelques caractéristiques de la tremblante

La tremblante est une maladie neurodégénérative fatale. Elle appartient au groupe des encéphalopathies subaiguës spongiformes transmissibles (ESST) ou « maladies à prions » qui affectent l'homme et plusieurs espèces animales. La maladie humaine de Creutzfeldt-Jakob et l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) ou « maladie des vaches folles », récemment apparue, en sont des exemples. Connue depuis plus de deux siècles, la tremblante affecte les ovins et les caprins de manière enzootique. Son caractère transmissible a été démontré expérimentalement (Cuillé et Chelle 1938). La transmission peut se faire expérimentalement par ingestion ou inoculation d'extraits cérébraux d'animaux malades. Après une longue période d'incubation cliniquement silencieuse (qui dure plusieurs mois ou années), les animaux atteints présentent des troubles nerveux sensitifs et moteurs. Le diagnostic, essentiellement histologique, repose sur l'observation des lésions de l'encéphale (spongiose). On ne dispose actuellement d'aucun moyen pour repérer les animaux en phase d'incubation. En l'absence de réaction immunitaire spécifique, il est notamment impossible de pratiquer un séro-diagnostic.

L'étiologie de la tremblante a suscité de nombreux débats. Parry (1960 et 1979) la considérait comme une maladie génétique (déterminée par un gène autosomal récessif), transmissible uniquement en conditions expérimentales. Mais Dickinson *et al* (1965 et 1974) ont mis en évidence la transmission maternelle et horizontale de la tremblante naturelle. Ils ont ainsi démontré le caractère infectieux de la maladie, même si les voies naturelles de transmission restent encore mal connues. Cependant, on ne peut exclure l'éventualité de formes génétiques de la tremblante ovine, à l'instar de ce qui est observé dans les ESST humaines. Certains auteurs avancent l'hypothèse selon laquelle la tremblante serait une maladie à la fois génétique et infectieuse (Brown *et al* 1991).

L'agent transmissible de la tremblante semble largement constitué de formes anormales de la protéine prion.

1973, à Compton, en race Swaledale. Ces expériences ont contribué très largement à l'analyse des mécanismes génétiques sous-jacents. Dans tous les cas, les animaux subissaient une injection sous-cutanée d'un broyat infectieux : isolat SSBP/1 (*Sheep Scrapie Brain Pool 1*) en Cheviot et Herdwick, isolats d'une autre origine (SW73 et SW75) en Swaledale. Le critère de sélection était la durée d'incubation pour les expériences débutées en 1961, la survie dans le cas des ovins Swaledale. La sélection était organisée de façon divergente avec, dans chaque cas, une lignée dite sensible et une lignée dite résistante.

Dans la lignée résistante à la tremblante, les animaux ne présentent pas de signes de tremblante après injection sous-cutanée de l'extrait SSBP/1 (tableau 1). Cependant, après inoculation par voie intra-cérébrale, une tremblante finit par se déclencher, mais avec un délai d'incubation plus de quatre fois supérieur à celui de la lignée sensible. Ces résultats ont été obtenus avec des extraits provenant de plusieurs origines, à l'exception de l'isolat CH1641 (Foster et Dickinson 1988), pour lequel une inversion de résistance apparaît entre les deux lignées Cheviot, avec toutefois une très grande variabilité de la durée d'incubation dans la lignée sensible. L'existence d'interactions entre génotype de l'hôte

et souches de tremblante expérimentale a été confirmée par Goldman *et al* (1994) : des ovins de ces mêmes lignées Cheviot, inoculés avec une souche ESB, ont également montré une inversion partielle de résistance.

Comme chez la souris (Dickinson *et al* 1968a), des croisements entre lignées Cheviot NPU résistantes et sensibles ont montré que ces différences génétiques sont, pour l'essentiel, dues à la ségrégation d'un gène à effet majeur, noté dans cette espèce *Sip* (*Scrapie incubation period*), avec les allèles *sA* (*short incubation*) de sensibilité et *pA* (*prolongated incubation*) de résistance. L'allèle *sA* se montre dominant sur l'allèle *pA*. Dans les troupeaux Herdwick NPU (Nussbaum *et al* 1975) et Swaledale (Hoare *et al* 1977, Davies et Kimberlin 1985), un déterminisme génétique analogue a été mis en évidence : il s'agit vraisemblablement du même gène (*Sip*), bien que ce ne soit pas formellement établi.

Les travaux sur l'étiologie de la tremblante ont par ailleurs montré que la fraction infectieuse des isolats comprend régulièrement une protéine, dite protéine prion PrP (cf. encadré 2). Le gène *Prn-p*, codant pour cette protéine, est très conservé chez les Mammifères. Il comprend un exon principal d'environ 2 kilobases qui contient toute l'information codante. Dans les espèces humaine et murine, certains polymorphismes du gène *Prn-p* sont associés à l'incidence des ESST, à leur durée d'incubation et à leurs formes cliniques. Des souris dépourvues de gène *Prn-p* sont totalement résistantes, tout en étant viables (Büeler *et al* 1993). Dans l'espèce ovine, des travaux conduits sur les lignées Cheviot NPU suggèrent que le gène majeur de sensibilité à la tremblante (*Sip*) est étroitement lié, voire probablement confondu, avec le gène *Prn-p* (Hunter *et al* 1989, Foster et Hunter 1991, Goldmann *et al* 1991), à l'instar des résultats obtenus chez la souris.

Tableau 1. Durée d'incubation de la tremblante expérimentale provoquée par deux sources d'infection (SSBP/1 et CH1641) dans les lignées ovines Cheviot sélectionnées pour ou contre la résistance à cette pathologie (d'après Dickinson *et al* 1968b et Foster et Dickinson 1988).

Source de tremblante	Voie d'injection	Durée d'incubation (en jours)	
		Lignée sensible	Lignée résistante
SSBP/1	intra-cérébrale	197 ± 7	917 ± 90
SSBP/1	sous-cutanée	313 ± 9	-
CH1641	intra-cérébrale	595 ± 122	360 ± 15

Agent transmissible non conventionnel (ATNC) et protéine prion PrP

La nature de l'agent transmissible de la tremblante, qui fait l'objet de vives controverses, demeure inconnue à ce jour. Pour cette raison, on le nomme « agent transmissible non conventionnel » (ATNC). Il est extrêmement résistant aux procédés inactivants physiques et chimiques. Prusiner (1982) a montré que l'inféctivité des extraits cérébraux d'animaux atteints est associée à la présence de la protéine « prion » PrP (prion = *proteinaceous infectious particle*). La maladie se caractérise par l'accumulation, dans l'encéphale, d'une isoforme anormale de cette glycoprotéine membranaire neuronale codée par l'hôte. L'isoforme pathologique PrP^{Sc} (Sc comme Scrapie) dérive de l'isoforme cellulaire normale PrP^C (C comme Cellulaire) par un processus post-traductionnel, consistant en une modification de la conformation sous l'influence de facteurs encore mal connus. L'isoforme PrP^{Sc} résiste partiellement à la protéinase K et se polymérise facilement sous forme pseudo-fibrillaire. L'ATNC semble largement constitué de molécules PrP^{Sc}. Contient-il aussi un acide nucléique ? La question reste en suspens.

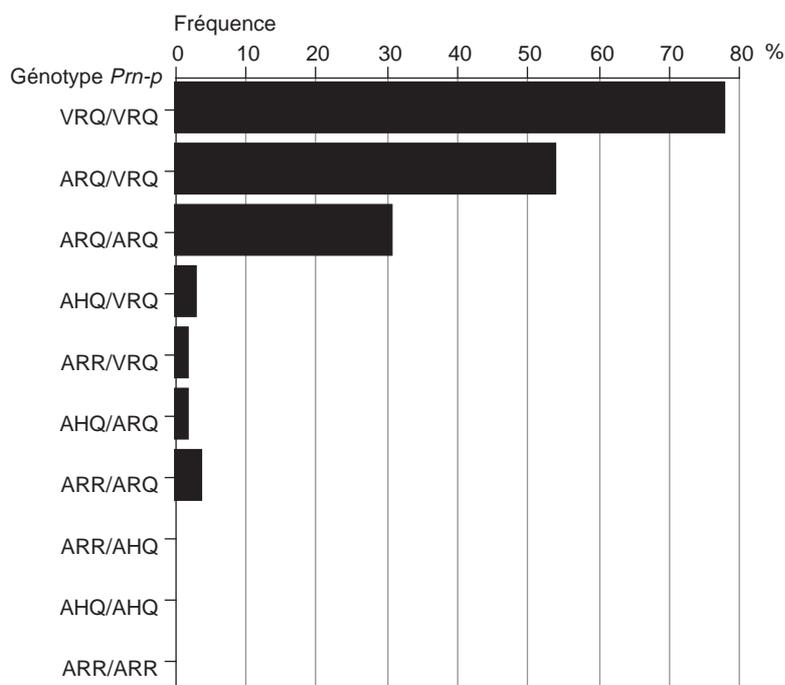
12 / Le gène *Prn-p* et la sensibilité des ovins à la tremblante naturelle

Des associations entre polymorphismes du gène *Prn-p* et incidence de la maladie naturelle ont été observées dans plusieurs races (Hunter *et al* 1991 et 1992, Hunter 1992). Les premiers polymorphismes décrits correspondaient à des polymorphismes de longueur des fragments de restriction (RFLP) n'affectant pas la région codante (vraisemblablement en déséquilibre de liaison avec les mutations causales responsables des phénotypes observés). Des travaux ultérieurs, faisant appel à d'autres techniques, telles la PCR (Polymerase Chain Reaction) et la DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis), ont permis d'identifier des polymorphismes dans la région codante. Lorsque ces polymorphismes sont associés à la susceptibilité à la tremblante, il est souvent difficile de savoir s'il s'agit de mutations causales affectant la susceptibilité à la maladie ou de marqueurs génétiques en déséquilibre de liaison avec de telles mutations. Chez les ovins, une dizaine de polymorphismes du gène *Prn-p* sont connus, avec des informations plus détaillées pour 5 codons parmi lesquels trois (codons 136, 154 et 171 ; figure 1) ont une action sur la sensibilité de l'animal à la tremblante naturelle comme cela a été montré par Goldman *et al* (1990), Laplanche *et al* (1993a et 1993b), Westaway *et al* (1994), Belt *et al* (1995), Clouscard *et al* (1995), Elsen *et al* (1996) et Hunter *et al* (1996).

Figure 1. Polymorphisme de PrP chez les ovins, lié à des différences de sensibilité à la tremblante. Les données ont été recueillies dans les races Romanov, Ile-de-France (Laplanche *et al* 1993b) et Cheviot (Hunter 1996). Abréviations utilisées pour désigner les acides aminés : Ala (A) = alanine, Arg (R) = arginine, Gln (Q) = glutamine, His (H) = histidine, Val (V) = valine.

Codons	1	136	154	171
Forme ancestrale		Ala (A)	Arg (R)	Gln (Q)
Formes mutées	↑ ↓	Val (V)	Arg (R)	Gln (Q)
		Ala (A)	His (H)	Gln (Q)
		Ala (A)	Arg (R)	Arg (R)
		Ala (A)	Arg (R)	His (H)

Figure 2. Fréquence d'animaux morts de tremblante naturelle selon leur génotype au locus *Prn-p* (codons 136, 154 et 171), dans un troupeau fermé d'ovins de race Romanov (d'après Elsen *et al* 1996). Abréviations utilisées pour désigner les acides aminés : A = alanine, H = histidine, Q = glutamine, R = arginine, V = valine.



Les variants suivants ont été trouvés : au codon 136 Alanine (A) ou Valine (V), au codon 154 Arginine (R) ou Histidine (H), au codon 171 Arginine (R), Histidine (H) ou Glutamine (Q). De l'ensemble des combinaisons possibles pour les trois codons (2x2x3), seules 5 sont observées (figure 1). Il est vraisemblable que l'allèle ARQ (Alanine en 136/Arginine en 154/Glutamine en 171) soit l'allèle ancestral dont ont dérivé, chacun par une seule mutation, les allèles ARR, AHQ, ARH et VRQ. L'analyse récente (Elsen *et al* 1996) d'une épidémie importante de tremblante dans un troupeau Romanov (environ 250 cas de trem-

La sensibilité à la tremblante varie selon le génotype des animaux au locus *Prn-p*, gène codant pour la protéine prion.

blante en moins de trois ans pour un troupeau d'un effectif initial de 600 têtes) illustre les rôles respectifs de ces allèles. Dans ce troupeau géré par l'INRA (où sont enregistrées de manière exhaustive les généalogies et les données zootechniques depuis sa création en 1971), il a été possible d'organiser, dès l'apparition de l'épidémie, des prises d'échantillons systématiques pour le typage du gène *Prn-p* ainsi qu'un diagnostic histologique de tous les individus cliniquement suspects de tremblante. Ceci constitue a posteriori un outil d'analyse exceptionnel de la sensibilité à la tremblante naturelle, dont les résultats sont résumés dans la figure 2. Les codons 154 et 171 jouent un rôle majeur dans la sensibilité à la tremblante, avec une protection apportée par les allèles Histidine (154) et Arginine (171). Les individus qui, aux codons 154 et 171 (considérés simultanément), portent l'allèle RQ à l'état homozygote, sont très sensibles ; ceux qui le portent à l'état hétérozygote sont peu sensibles ; et ceux qui ne portent pas cet allèle RQ semblent protégés. De plus, dans le groupe des sensibles, le génotype en 136 joue un rôle modulateur, la sensibilité augmentant avec le nombre d'exemplaires de l'allèle Valine (0, 1 ou 2).

Ces résultats doivent être interprétés en tenant compte de leurs limites : un seul type racial pour l'hôte, un seul lieu et donc peut-être une seule souche de tremblante pour l'agent pathogène. Ils sont cependant cohérents avec les résultats rapportés par d'autres auteurs dans des conditions variées. Notamment, le rôle protecteur de l'allèle Arginine (R) au codon 171 a été observé dans plusieurs races : Lacaune (Cloucard *et al* 1995), Texel (Belt *et al* 1995) et Romanov (Elsen *et al* 1996). A ce jour, à l'exception d'un animal Suffolk observé au Japon (Ikeda *et al* 1995), aucun mouton atteint n'a été typé RR au codon 171 de *Prn-p*.

Deux études « cas-témoin » réalisées en France (tableau 2) indiquent par ailleurs que l'allèle Histidine au codon 171 serait un allèle

récessif de sensibilité, comme l'allèle Glutamine, mais avec semble-t-il un moindre effet.

1.3 / Existe-t-il d'autres gènes contrôlant la sensibilité à la tremblante ?

Il n'en existe aucune preuve formelle à ce jour. Millot *et al* (1988) ont affirmé avoir trouvé une liaison entre le système majeur d'histocompatibilité OLA et la résistance à la tremblante. Leurs conclusions furent cependant très critiquées (Cullen 1989). Des observations en cours sur des animaux tous identiques pour le gène *Prn-p* devraient apporter une nouvelle lumière sur ces résultats anciens. Les informations provenant d'études sur la souris laissent supposer que d'autres gènes que *Prn-p* doivent intervenir dans le contrôle de cette sensibilité. Pour les mettre en évidence sans ambiguïté, il conviendrait d'éliminer l'effet considérable du gène *Prn-p* en comparant des animaux possédant tous le même génotype en ce locus. Dans ces conditions, la recherche d'autres gènes de résistance à la tremblante pourrait être basée sur une approche de type détection de QTL (Quantitative Trait Loci) dans laquelle seraient comparés les niveaux de résistance de groupes de descendants d'un même père différant par l'allèle qu'il leur a transmis pour un gène candidat ou un marqueur génétique (Soller et Genizi 1978).

2 / Perspectives de sélection contre la sensibilité à la tremblante ovine

Les résultats obtenus par divers auteurs pour plusieurs races ovines élevées dans différents milieux montrent de façon encourageante qu'il existe une variabilité génétique de la sensibilité à la tremblante et suggèrent donc qu'une sélection en faveur de la résistance pourrait être mise en place. Des actions de ce type sont d'ailleurs en cours dans plusieurs pays dont le Royaume-Uni (M. Dawson, communication personnelle) et les Pays-Bas (A. Visscher, communication personnelle). Compte tenu de nos connaissances actuelles, ce type de sélection au niveau d'une population consisterait en l'élimination des animaux porteurs des allèles de sensibilité (Arginine en 154/Glutamine en 171). La mise en place d'une telle sélection pose toutefois plusieurs problèmes d'ordres théoriques et pratiques.

2.1 / La sélection pour la résistance à la tremblante d'après le génotype *Prn-p* est-elle une solution générale et durable ?

Les connaissances sont encore partielles et doivent être complétées avant d'apporter une réponse à cette interrogation. Deux questions se posent notamment.

Cette variabilité permettrait d'envisager une sélection des animaux porteurs d'allèles de résistance. Mais des phénomènes d'inversion de résistance ont été observés expérimentalement en utilisant des "souches" différentes de tremblante.

Tableau 2. Comparaison « cas-témoin » : fréquences génotypiques aux codons 136 et 171 du locus *Prn-p* pour des animaux malades et sains dans deux races françaises.

Génotype au codon		Race B		Race D	
136	171	Malades	Sains	Malades	Sains
AA	RR		24,8 %		3,7 %
AA	RH		3,8 %		4,9 %
AA	RQ		46,7 %		21,7 %
AV	RQ				0,3 %
AA	HH			2,2 %	5,4 %
AA	QH	10,3 %	1,8 %	18,8 %	21,1 %
AA	QQ	75,9 %	22,9 %	43,6 %	39,7 %
AV	QH			4,3 %	0,6 %
AV	QQ	13,8 %		30,4 %	2,6 %
VV	QQ			0,7 %	
Effectif typé		58	105	138	350

Abréviations utilisées pour désigner les acides aminés : A = alanine, H = histidine, Q = glutamine, R = arginine, V = valine.

a / Universalité de la résistance ?

Les allèles de résistance décrits à ce jour sont-ils universels, ou existe-t-il des interactions entre génotype de l'hôte et agent pathogène pouvant conduire à une inversion de la résistance ? L'argument positif en faveur de l'universalité de la résistance est la convergence de résultats obtenus pour des races variées élevées dans des milieux variés. On se souviendra cependant de l'observation japonaise d'un homozygote RR en 171 atteint de tremblante (Ikeda *et al* 1995) et des inversions de résistance obtenues en tremblante expérimentale avec les isolats CH1641 et ESB (Foster et Dickinson 1988, Goldman *et al* 1994). On peut aussi imaginer que l'ensemble des cas étudiés à ce jour ne concernait qu'un nombre restreint de souches de tremblante naturelle, d'autres souches (dont l'ESB) pouvant se comporter différemment. Le réseau français d'épidémiologie-surveillance mis en place à la fin de 1996 prévoit la collecte systématique d'échantillons d'ADN en vue d'un typage du gène *Prn-p* chez les animaux déclarés atteints de tremblante. Ce dispositif devrait nous permettre d'identifier d'éventuelles discordances entre la survenue de la maladie et le génotype déterminé au locus *Prn-p*.

b / Portage d'animaux génétiquement résistants ?

Les mécanismes créant la « résistance » de certains génotypes aux ESST sont inconnus. La résistance pourrait consister en un simple allongement de la durée d'incubation. Il n'est donc pas exclu que les animaux dits résistants se révèlent être des porteurs sains, qui seraient alors des réservoirs d'agents pathogènes. Dans ce cas, une sélection en faveur de ces génotypes résistants aurait à terme des effets pervers sur l'évolution de la maladie dans les élevages. Des expérimentations sont nécessaires pour éprouver cette hypothèse : elles ne devraient donner des résultats définitifs qu'à échéance de 4 ou 5 ans. Nous envisageons dans un premier temps à l'INRA de tester l'infectiosité de tissus de brebis résistantes élevées dans un milieu contaminé. Le test qui consiste en l'inoculation intracérébrale à des souris standard d'un broyat de ces tissus et en l'observation de l'apparition éventuelle d'une ESST ne devrait pas donner de réponse avant un an. A plus long terme, la mise en contact, dans des conditions contrôlées, de brebis résistantes issues d'un milieu contaminé avec des brebis sensibles issues d'un milieu sain devrait apporter une réponse sur la possibilité de portage et de transmission en conditions naturelles.

2.2 / Comment organiser une telle sélection ?

a / Coûts de la sélection sur la résistance à la tremblante

Cette sélection a un coût direct important, avec la détermination des génotypes au locus *Prn-p* en laboratoire. L'ordre de grandeur est

actuellement de 100 à 200 F par analyse selon le nombre de codons testés et les économies d'échelle envisageables. Appliquée à toute une race (ou pour le moins à sa fraction soumise au contrôle de performances), cette mesure de la sensibilité génétique aurait un coût considérable. Elle doit donc être limitée aux reproducteurs ayant un impact maximum sur l'avenir de la race, tels que les béliers avant leur mise en testage ou avant leur diffusion par exemple.

Cette sélection a aussi un coût indirect mesurable en terme de perte de pression de sélection sur les caractères principaux détournée au profit de l'amélioration de la résistance à la tremblante. En effet, pour un effectif constant (fixé par la taille de la population femelle) de béliers sélectionnés après le testage sur performances propres ou sur descendance, la mise en place d'une présélection sur les génotypes *Prn-p* implique, soit de tester moins de jeunes béliers, soit d'augmenter le nombre de jeunes mâles issus d'accouplements raisonnés. Dans les deux cas, ceci se traduit par une moindre valeur des reproducteurs retenus pour les caractères principaux. Le coût serait encore augmenté dans l'hypothèse du contrôle de la sensibilité des brebis « élite » et de la mise en place d'accouplements raisonnés d'après les génotypes *Prn-p*.

Enfin, il conviendra de vérifier que le locus *Prn-p* n'est pas lié génétiquement à des locus de gènes contrôlant les caractères d'intérêt zootechnique, ce qui pourrait augmenter les conséquences économiques induites par une sélection sur la résistance à la tremblante. Les expériences de détection de QTL qui se mettent en place chez les ruminants devraient apporter des réponses à cette question.

b / Premières étapes

Compte tenu de l'ensemble des remarques qui viennent d'être formulées, une sélection massive sur les allèles de résistance à la tremblante ne saurait aujourd'hui être préconisée. Avant toute décision, il est souhaitable de mettre en place une épidémiologie-surveillance de chaque race pour la tremblante et d'estimer les fréquences génotypiques qui lui sont propres au locus *Prn-p*. En effet, les fréquences des allèles peuvent être très différentes d'une race à l'autre. Le tableau 3, dans lequel sont comparées 5 populations françaises (à partir des typages d'un échantillon d'animaux sains), illustre bien ce phénomène. L'efficacité de la sélection pour augmenter la fréquence d'un allèle de résistance est en effet très dépendante de sa fréquence initiale. Dans une population à faible fréquence de départ, son coût peut être jugé prohibitif si l'incidence globale de la tremblante est faible (malheureusement, les populations les plus touchées sont probablement les populations génétiquement les plus sensibles). Cette première étape de description du polymorphisme au locus *Prn-p* permettrait par ailleurs de décider, pour la race étudiée, des codons à

Le risque de sélectionner des animaux porteurs sains, qui n'expriment pas la maladie mais pourraient la transmettre, doit aussi être envisagé.

Tableau 3. Fréquences génotypiques aux codons 136 et 171 du locus *Prn-p* pour diverses populations ou troupeaux en France (intra-race, nombre d'animaux typés supérieur à 100).

Génotype au codon		Race A	Race B	Race C	Race D	Race E
136	171					
AA	RR	14,3 %	24,8 %	25,0 %	3,7 %	0,9 %
AA	RH	2,1 %	3,8 %		4,9 %	
AA	RQ	50,7 %	46,7 %	49,2 %	21,7 %	11,4 %
AV	RQ				0,3 %	9,2 %
AA	HH				5,4 %	
AA	QH	3,6 %	1,8 %		21,1 %	
AA	QQ	29,3 %	22,9 %	25,0 %	39,7 %	33,0 %
AV	QH				0,6 %	
AV	QQ			0,8 %	2,6 %	35,1 %
VV	QQ					10,4 %

Abréviations utilisées pour désigner les acides animés : A = alanine, H = histidine, Q = glutamine, R = arginine, V = valine.

typer en routine parmi les 3 (codons 136, 154 et 171).

Si la tremblante ne concerne qu'une partie limitée des élevages de la race, une solution pourrait être de concentrer les efforts sur les seuls troupeaux infectés et non de raisonner au niveau global de la population. Dans cette optique, seuls des béliers de génotypes résistants seraient utilisés dans ces élevages, les troupeaux non atteints pouvant se servir de tous les types de mâles et donc bénéficier pleinement du progrès génétique obtenu au niveau de la population dans son ensemble. L'utilisation de mâles homozygotes pour un allèle de résistance devrait assurer la quasi-protection de l'ensemble de ses filles, ce qui permettrait d'envisager une éradication rapide de la maladie dans ces troupeaux atteints, à condition toutefois que l'universalité de la résistance soit confirmée et que l'absence de risques inhérents à d'éventuels porteurs sains soit vérifiée. Cette solution impliquerait l'identification, pour chaque génération de béliers « élite », d'un ensemble suffisant de béliers de génotype « résistant », ce qui serait obtenu en typant le locus *Prn-p* d'une partie seulement de la génération (jusqu'à l'obtention de l'effectif souhaité).

En l'état actuel de nos connaissances, cette stratégie de sélection limitée aux élevages atteints présenterait l'avantage de maintenir, au niveau global de la race, un polymorphisme au locus *Prn-p* qui laisserait la possibilité de modifier les fréquences alléliques, dans les générations futures, en fonction de données nouvelles.

Conclusion

Compte tenu de l'accumulation des arguments en faveur de l'hypothèse d'une transmission possible de l'ESB à l'homme et de l'impossibilité d'écarter l'éventualité d'une contamination de certains ovins par l'agent transmissible de l'ESB, il convient d'étudier attentivement les moyens de réduire l'incidence de la tremblante dans les élevages

ovins. Les efforts conventionnels réalisés pour éradiquer cette maladie se sont pour le moment révélés peu efficaces, comme en témoigne l'expérience américaine dans laquelle, après 45 ans d'efforts, le problème reste entier (Detwiler 1996). Parmi les approches envisageables dans l'avenir, figure l'exploitation de la variabilité génétique de la sensibilité à la tremblante. La mise en évidence du rôle majeur que joue le polymorphisme du gène *Prn-p*, confortée par les résultats récemment acquis en France concernant la sensibilité à la tremblante naturelle, ouvre des perspectives nouvelles très encourageantes en matière de sélection.

Cependant, en raison des incertitudes scientifiques relatives à l'universalité de la résistance et surtout aux risques potentiels que pourraient représenter les porteurs sains (tant pour la santé animale que pour la santé humaine), il paraît prématuré de mettre en place dès maintenant une sélection d'animaux génétiquement « résistants » à l'échelle de toute une population. A ce stade de nos connaissances, il importe de conforter le processus de recherche-développement : ainsi, nous pourrions enrichir, pour chaque race ou population ovine concernée, les connaissances sur l'incidence de la tremblante et sur la structure génétique de chaque population au locus *Prn-p*. Ensuite, dans une approche raisonnée tenant compte des résultats scientifiques et de la structure génétique de chaque race au locus *Prn-p*, nous pourrions définir une (des) stratégie(s) spécifique(s) de sélection, compte tenu par ailleurs des coûts directs et indirects et des délais inhérents à la mise en œuvre d'une telle sélection. En attendant, des opérations de sélection limitées aux troupeaux atteints (utilisation de béliers de génotype résistant) peuvent présenter un double intérêt pour l'éleveur individuellement et pour la recherche, sans hypothéquer la variabilité génétique de la race au locus *Prn-p*.

Cet article a été présenté lors des troisièmes journées 3R, les 4 et 5 décembre 1996 à Paris.

En l'état actuel des connaissances, on ne peut donc pas préconiser une sélection sur la résistance à la tremblante au niveau d'une race.

Références bibliographiques

- Belt P.B.G.M., Muileman I.H., Schreuder B.E.C., Ruitjer J., Bos-de, Gielkens A.L.J., Smits M.A., 1995. Identification of five allelic variants of the sheep *PrP* gene and their association with natural scrapie. *J. Gen. Vir.*, 76, 509-517.
- Brown P., Goldfarb L.G., Gajdusek D.C., 1991. The new biology of spongiform encephalopathy : infectious amyloidoses with a genetic twist. *Lancet*, 337, 1019-1022.
- Büeler H., Aguzzi A., Sailer A., Greiner R.A., Autenried P., Aguët M., Weissmann C., 1993. Mice devoid of PrP are resistant to scrapie. *Cell*, 73, 1339-1347.
- 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. *J. Gen. Virol.*, 76, 2097-2101.
- Cuillé J., Chelle J.L., 1938. La tremblante du mouton est bien inoculable. *C.R. Acad. Sci.*, Paris, 206, 78-79.
- Cullen P.R., 1989. Scrapie and the sheep MHC : claims of linkage refuted. *Immunogenetics*, 29, 414-416.
- Davies D.C., Kimberlin R.H., 1985. Selection of Swaledale sheep of reduced susceptibility to experimental scrapie. *Vet. Rec.*, 116, 211-214.
- Detwiler L.A., 1996. Scrapie in sheep and goats : an overview of the disease with an emphasis on control efforts in the United States. *Proc 47^e Congrès de la Fédération Européenne de Zootechnie*. Lillehammer, Norvège, 26-29 août 1996.
- Dickinson A.G., Young G.B., Stamp J.T., Renwick C.C., 1965. An analysis of natural scrapie in Suffolk sheep. *Heredity*, 20, 485-503.
- Dickinson A.G., Meikle V.M.H., Fraser H.G., 1968a. Identification of a gene which controls the incubation of some strains of scrapie in mice. *J. Comp. Pathol.*, 78, 293-299.
- Dickinson A.G., Stamp J.T., Renwick C.C., Rennie J.C., 1968b. Some factors controlling the incidence of scrapie in Cheviot sheep injected with a Cheviot-passaged scrapie agent. *J. Comp. Pathol.*, 78, 313-321.
- Dickinson A.G., Stamp J.T., Renwick C.C., 1974. Maternal and lateral transmission of scrapie in sheep. *J. Comp. Pathol.*, 84, 19-25.
- Elsen J.M., Schelcher F., Amigues Y., Laplanche J.L., Cloucard C., Poivey J.P., Vu Tien Khang J., Eychenne F., Sarradin P., Lantier F., 1996. Preliminary analyses of a scrapie epidemic in a closed flock of Romanov. *Proc 47^e Congrès de la Fédération Européenne de Zootechnie*. Lillehammer, Norvège, 26-29 août 1996.
- Foster J.D., Dickinson A.G., 1988. The unusual properties of CH1641, a sheep-passaged isolate of scrapie. *Vet. Rec.*, 123, 5-8.
- Foster J.D., Hunter N., 1991. Partial dominance of the sA allele of the *Sip* gene for controlling experimental scrapie. *Vet. Rec.*, 128, 548-549.
- Goldman W., Hunter N., Foster J., Salbaum J.M., Beyreuther K., Hope J., 1990. Two alleles of a neural protein gene linked to scrapie in sheep. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 87, 2476-2480.
- Goldman W., Hunter N., Benson G., Foster J.D., Hope J., 1991. Different scrapie-associated fibril proteins (PrP) are encoded by lines of sheep selected for different alleles of the *Sip* gene. *J. Gen. Virol.*, 72, 2411-2417.
- Goldman W., Hunter N., Smith G., Foster J., Hope J., 1994. PrP genotypes and agent effects in scrapie : change in allelic interaction with different isolates of agent in sheep, a natural host of scrapie. *J. Gen. Virol.*, 75, 989-995.
- Hoare M., Davies D.C., Pattison I.H., 1977. Experimental production of scrapie-resistant Swaledale sheep. *Vet. Rec.*, 101, 482-484.
- Hunter N., 1992. Association of *PrP* gene polymorphisms with the incidence of natural scrapie in British sheep. In : Prusiner S.B., Collinge J., Powell J. and Anderton B. (eds), *Prion diseases of humans and animals*, 319-328. Ellis Horwood Ltd, Chichester.
- Hunter N., 1996. Genotyping and susceptibility of sheep to scrapie. In : Baker H. and Ridley R.M. (eds), *Methods in molecular medicine : prion diseases*, 211-221. Humana Press Inc., Totowa, N.J.
- Hunter N., Foster J.D., Dickinson A.G., Hope J., 1989. Linkage of the gene for scrapie-associated fibril protein (PrP) to the *Sip* gene in Cheviot sheep. *Vet. Rec.*, 124, 364-366.
- Hunter N., Foster J.D., Benson G., Hope J., 1991. Restriction fragment polymorphisms of the scrapie-associated fibril protein (PrP) gene and their association with susceptibility to natural scrapie in British sheep. *J. Gen. Virol.*, 72, 1287-1292.
- Hunter N., Foster J.D., Hope J., 1992. Natural scrapie in British sheep : breeds, ages and PrP gene polymorphisms. *Vet. Rec.*, 130, 389-392.
- Hunter N., Foster J.D., Goldman W., Stear M.J., Hope J., Bostock C., 1996. Natural scrapie in a closed flock of Cheviot sheep occurs only in specific PrP genotypes. *Arch. Virol.*, 141, 809-824.
- Ikeda T., Horiuchi M., Ishiguro N., Muramatsu Y., Kai-Uwe G.G., Shinagawa M., 1995. Amino acid polymorphisms of PrP with reference to onset of scrapie in Suffolk and Corriedale sheep in Japan. *J. Gen. Virol.*, 76, 2577-2581.
- Laplanche J.L., Chatelain J., Beaudry P., Dussaucy M., Bounneau C., Launay J.M., 1993a. French autochthonous scrapied sheep without the 136Val PrP polymorphism. *Mamm. Genome*, 4, 463-464.
- Laplanche J.L., Chatelain J., Westaway D., Thomas S., Dussaucy M., Brugère-Picoux J., Launay J.L., 1993b. PrP polymorphisms associated with natural scrapie discovered by denaturing gradient gel electrophoresis. *Genomics*, 15, 30-37.
- Millot P., Chatelain J., Dautheville C., Salmon D., Cathala F., 1988. Sheep major histocompatibility (OLA) complex : linkage between a scrapie susceptibility/resistance locus and the OLA complex in Ile-de-France sheep progenies. *Immunogenetics*, 27, 1-11.
- Nussbaum R.E., Henderson W.M., Pattison I.H., Elcock N.V., Davies D.C., 1975. The establishment of sheep flocks of predictable susceptibility to experimental scrapie. *Res. Vet. Sci.*, 18, 49-58.

Parry H.B., 1960. Scrapie : a transmissible hereditary disease of sheep. *Nature*, 185, 441-443.

Parry H.B., 1979. Elimination of natural scrapie in sheep by sire genotype selection. *Nature*, 277, 127-129.

Prusiner S.B., 1982. Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science*, 216, 136-144.

Soller M., Genizi A., 1978. The efficiency of experimental designs for the detection of linkage between a marker locus and a locus affecting a quantitative trait in segregating populations. *Biometrics*, 34, 47-55.

Westaway D., Zuliani V., Cooper C.M., Da Costa M., Neuman S., Jenny A.L., Detwiller L., Prusiner S.B., 1994. Homozygosity for prion protein alleles encoding glutamine-171 renders sheep susceptible to natural scrapie. *Genes and Development*, 8, 959-969.

Abstract

Genetics of susceptibility to scrapie in sheep: current research and prospect.

In several species (man, mouse, sheep), the susceptibility to transmissible subacute spongiform encephalopathies is highly regulated by the host genotype. A major part of the observed genetic variability depends on one gene. This gene is likely the *Prn-p* gene, which codes for the host prion protein PrP. According to an hypothesis supported by several authors, this protein could be the causal agent of these diseases or it could be associated with the causal agent. Molecular analysis of the structure of the *Prn-p* gene in sheep demonstrates segregating alleles that differ from each other by a single mutation. It could be interesting, therefore, to examine the possibility of

controlling scrapie in sheep by selective breeding on the basis of laboratory analyses of the *Prn-p* gene polymorphism. Before selecting against this susceptibility, however, different questions need to be answered: Could resistant animals act as a source of infection? Could animals resistant to one scrapie strain be susceptible to another? How expensive would such a selection scheme be? How should the selection be organised in practice?

Elsen J.M., Barillet F., Vu Tien Khang J., Schelcher F., Amigues Y., Laplanche J.L., Poivey J.P., Eychenne F., 1997. Génétique de la sensibilité à la tremblante ovine : recherches en cours et perspectives. *INRA Prod. Anim.*, 10 (2), 133-140.