



COMITÉ SCIENTIFIQUE DE L'AGENCE FÉDÉRALE POUR LA SÉCURITÉ DE LA CHAÎNE ALIMENTAIRE

AVIS 29-2006

Objet: Demande d'avis au sujet du projet d'arrêté royal organisant pour les races ovines des programmes d'élevage axés sur la résistance aux encéphalopathies spongiformes transmissibles (dossier Sci Com 2006/35)

Le Comité scientifique de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire,

Vu la loi du 4 février 2000 relative à la création de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la chaîne alimentaire, en particulier l'article 8 ;

Vu l'arrêté royal du 19 mai 2000 relatif à la composition et au fonctionnement du Comité scientifique institué auprès de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire ;

Considérant le règlement d'ordre intérieur visé en article 3 de l'arrêté royal du 19 mai 2000 relatif à la composition et au fonctionnement du Comité scientifique institué auprès de l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire, approuvé par le Ministre le 27 mars 2006 ;

Vu la demande de l'avis du Comité scientifique au sujet du projet d'arrêté royal organisant pour les races ovines des programmes d'élevage axés sur la résistance aux encéphalopathies spongiformes transmissibles;

Considérant les discussions lors de la réunion de groupe de travail du 13 juillet 2006 et de la séance plénière du 8 septembre 2006;

donne l'avis suivant :

1. Termes de référence

Le projet d'arrêté royal vise à appliquer la Décision 2003/100/CE de la Commission du 13 février 2003 *établissant des prescriptions minimales pour la mise en place de programmes d'élevage axés sur la résistance aux encéphalopathies spongiformes transmissibles chez les ovins*, notamment par la mise en place d'un programme d'élevage visant la sélection génétique de génotypes de la protéine prion qui confèrent une certaine résistance à la tremblante (génotype ARR/ARR, par exemple), et peut-être à l'ESB. Cette Décision 2003/100/CE avance le fait que la tremblante représente un problème considérable pour la santé animale au sein de la population ovine et caprine et que le risque que l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) ait infecté la population ovine et caprine n'est pas écarté. De ce fait, l'infection des ovins et des caprins par les encéphalopathies spongiformes transmissibles (EST) présente un risque potentiel pour la santé publique.

Des recherches ont montré que certains génotypes de la protéine prion chez les ovins confèrent une résistance à la tremblante, et peut être à l'ESB. Le programme d'élevage axé sur la résistance aux EST chez les ovins établi par la Décision 2003/100/CE vise à établir une sélection génétique d'ovins issus de cheptels à haute valeur génétique porteurs d'allèles ARR, qui confèrent une résistance à la tremblante, et donc peut-être à l'ESB, tout en diminuant la fréquence des allèles VRQ pour lesquels il est établi qu'ils confèrent une certaine susceptibilité à la tremblante. Il est donc possible de sélectionner au sein de la population ovine des animaux possédant un génotype résistant à la tremblante.

Récemment, l'EFSA a émis un avis (Question N° EFSA-Q-2005-291 ; http://www.efsa.europa.eu/en/science/biohaz/biohaz_opinions/ej382_breeding_sheep_tse.html) concernant ce programme d'élevage établi par la Décision 2003/100/CE.

Depuis 2002, l'Union européenne a par ailleurs initié, par la Décision 2002/1003/CE, une étude des races ovines dans les Etats membres pour avoir une approximation de la fréquence des ovins ARR/ARR pour chaque race importante.

Le projet d'arrêté royal pourvoit à un cadre légal dans lequel les programmes d'élevage existant en Belgique (notamment ceux organisés en région flamande par les associations « Kleine herkauwers Vlaanderen » et « Stichting Levend Erfgoed ») peuvent être repris.

L'exécution de la Décision 2003/100/CE relève de la compétence de l'autorité fédérale, vu que les mesures de sélection envisagées par l'arrêté royal en projet sont prises spécifiquement en vue de la protection de la santé animale, et par conséquent dans l'intérêt de la santé publique et de la sécurité de la chaîne alimentaire.

Dans un premier temps, il avait été convenu que cette exécution des dispositions de la Décision 2003/100/CE relevait de la compétence des régions. Dès lors, le Ministère de la Communauté flamande a publié l'arrêté ministériel du 2 juin 2004 et le gouvernement wallon a commencé à rédiger un arrêté. Cependant, dans son avis 38.512/4 du 1^{er} juillet 2005, le Conseil d'Etat a conclu que l'exécution de la Décision 2003/100/CE relevait de la compétence de l'autorité fédérale. Depuis lors, le Ministère de la Communauté flamande a abrogé l'arrêté ministériel du 2 juin 2004 précité (arrêté ministériel du 22 décembre 2005). Suite et en conséquence de cela, l'AFSCA a rédigé le présent projet d'arrêté royal.

Le programme d'élevage tel qu'il est décrit dans le projet d'arrêté se limite aux exigences minimales de la Décision 2003/100/CE.

Le projet d'arrêté royal prévoit, à l'article 2, la participation obligatoire des responsables de cheptels de valeur génétique élevée au programme d'élevage prévoyant la sélection pour la résistance aux EST chez les ovins, la participation volontaire à ce programme de responsables d'autres cheptels ou troupeaux, ainsi que les mesures pour les animaux femelles et mâles porteurs de l'allèle VRQ (allèle conférant une susceptibilité à la tremblante) appartenant aux cheptels ou troupeaux sus-mentionnés. Il indique, à l'article 3, que les responsables participant au programme d'élevage doivent faire génotyper tous les béliers destinés à la reproduction, et prévoit, à l'article 4, les mesures à appliquer concernant les animaux mâles porteurs de l'allèle VRQ. Jusqu'à présent en Belgique, le génotypage se pratiquait déjà mais l'application des mesures se faisait sur base volontaire. Le projet d'arrêté royal prévoit, aux articles 2 et 4, des dérogations aux mesures précitées pour les races pour lesquelles la fréquence de l'allèle ARR est inférieure à 25% et les races qui sont menacées d'abandon. Cette liste de races ovines (reprise à l'annexe III) a été établie à partir de l'article 4 de l'arrêté ministériel de la communauté flamande du 21 mars 2005 relatif à l'organisation de l'élevage des petits ruminants, article 4 qui organise la tenue des livres généalogiques des races ovines (races indigènes reconnues comme rares par les Régions). Le mouton laitier belge y a été rajouté. L'article 6 du projet d'arrêté royal prévoit que l'Agence peut, sur demande de l'éleveur, accorder une reconnaissance d'un statut de résistance aux EST (niveau 1 ou niveau 2 selon le niveau de reconnaissance accordé d'après certains

critères détaillés dans le projet d'arrêté royal) aux cheptels ou troupeaux génotypés, et prévoit un échantillonnage officiel afin de vérifier si ces cheptels ou troupeaux satisfont aux critères exigés. L'article 7 prévoit les modalités en cas de non remplissage de ces critères lors du contrôle. L'article 8 prévoit que le génotypage ne peut être effectué que dans les laboratoires agréés par l'Agence et désigne le CERVA comme Laboratoire national de Référence pour le génotypage effectué dans le cadre du programme d'élevage.

2. Introduction

La tremblante est une infection acquise possédant une période d'incubation allant de 2 à 5 ans, et un âge moyen à l'apparition des signes cliniques de 2,5 ans (Schreuder *et al.*, 1994). De façon typique, pas plus de 5% des animaux d'un troupeau ne montrent de signes cliniques d'infection (Novakofski *et al.*, 2005). L'épidémie de tremblante s'entretient par elle-même du fait de la transmission horizontale (animal à animal) et de l'apparente persistance dans l'environnement (pâtures contaminées) de l'agent responsable (Chatelain *et al.*, 1983, Redman *et al.*, 2002), ce qui peut entraîner l'infection des animaux par consommation de pâtures ou par inhalation de poussière contaminée. La tremblante ne se transmet pas des moutons aux humains. Le risque chez l'humain est associé à une possible exposition des ovins à des aliments pour animaux contaminés par l'agent de l'ESB.

Biologie de la protéine prion (PrP) et pathogénie

L'agent infectieux de la tremblante est une forme modifiée (PrP^{SC}) de la protéine prion PrP naturelle (PrP^C) codée par le gène de la protéine PrP dans l'hôte. Cette modification n'implique pas de changement dans la séquence des acides aminés, mais un changement dans la structure secondaire et tertiaire de la protéine. Une explication possible concernant la pathogénie est la suivante : lorsqu'une protéine PrP^{SC} entre dans un organisme, elle est capable de convertir les protéines PrP^C présentes en protéines PrP^{SC} infectieuses, qui peuvent occasionner l'apparition de signes cliniques (OMIA ID : 000944). On retrouve la protéine PrP^{SC} dans les tissus lymphatiques, les amygdales, la rate, le thymus et le système nerveux.

Génétique et résistance

Des variations (polymorphisme) dans la région codante du gène codant pour la protéine PrP influencent la susceptibilité à la tremblante (Novakofski *et al.*, 2005). Les polymorphismes majeurs concernent les acides aminés 136 (A136V), 154 (H154R) et 171 (H171Q,R) (Tranulis *et al.*, 2002). Les animaux avec un génotype ARQ/ARQ, ARQ/VRQ et VRQ/VRQ sont les plus susceptibles à la tremblante, les hétérozygotes AHQ ou ARR sont partiellement susceptibles, tandis que les homozygotes ARR/ARR sont cliniquement résistants (Hunter, 2003 ; Baylis et Goldmann, 2004). On ne connaît pas le mécanisme exact de cette résistance, et de nombreuses hypothèses ont été émises. Actuellement, on se base sur ces trois codons pour l'évaluation du phénotype (sensible ou résistant) d'un animal, mais d'autres études montrent que ce phénotype pourrait également être associé au polymorphisme d'autres codons, tels que par exemple le codon 141 (Moum *et al.*, 2005).

Cependant, diverses études révèlent que cette résistance n'est pas absolue. En effet, un certain pourcentage des animaux de génotype résistant peuvent être infectés par l'agent de la tremblante (Ikeda *et al.*, 1995 ; Buschmann *et al.*, 2004a). Des cas de tremblante ont également été identifiés chez des ovins possédant le génotype de haute résistance ARR/ARR (Agence française de sécurité sanitaire des aliments, 2003), ce qui indique qu'il existe des cas réfractaires. Deuxièmement, dans son avis récent concernant le programme d'élevage pour la résistance aux EST chez les ovins (EFSA-Q-2005-291), l'EFSA fait référence à des études de transmissions expérimentales, et notamment à l'étude de Houston (2003) qui fait part de la mort d'un mouton de génotype ARR/ARR après inoculation intracérébrale de l'agent de l'ESB. Ceci indique que le génotype résistant à la tremblante ne

protège pas nécessairement les ovins de l'ESB, et introduit de nouvelles inquiétudes concernant la résistance des moutons de génotype ARR/ARR envers les maladies à prions. Dans ce même avis de l'EFSA, une étude récente confirme ces résultats, après inoculation orale d'une souche d'ESB adaptée au mouton (Andreoletti *et al.*, 2006). Toujours dans ce même avis, il est mentionné également que l'ESB a aussi pu être expérimentalement transmise à des ovins porteurs de l'allèle AHQ et VRQ (Bellworthy *et al.*, 2005 ; Gonzalez *et al.*, 2005). La déduction, à partir de ces études expérimentales, de la possibilité d'existence de cas cliniques naturels d'ESB chez des ovins ARR/* est peu probable, mais l'existence d'une infection asymptomatique ne peut pas être exclue parmi ces génotypes (Hill *et al.*, 2000).

Finalement, il est actuellement établi que des ovins possédant un génotype de résistance à la tremblante peuvent développer la forme atypique de la tremblante de façon naturelle. En effet, récemment, un cas de tremblante atypique a été identifié sur un ovin de génotype ARR/ARR en Belgique (De Bosschere *et al.*, in press), ainsi que, également en Belgique, chez un ovin de génotype ARR/ARQ (De Bosschere *et al.*, 2005). La forme atypique de la tremblante est particulièrement ennuyeuse pour les raisons suivantes : les signes cliniques n'apparaissent que tardivement, ce qui rend la surveillance passive de ces animaux difficile et, concernant la surveillance active, des cas possibles de tremblante atypique peuvent être manqués par l'utilisation des tests de détection rapide habituels pas assez sensibles (Buschmann *et al.*, 2004b).

Méthodes de génotypage

Les méthodes utilisées actuellement par les différents laboratoires réalisant le génotypage sont diverses. En résumé, ces procédures sont basées sur (1) l'amplification des segments d'ADN cibles (PCR) en utilisant des amorces spécifiques, suivie de (2) l'identification des produits de PCR par trois méthodes différentes qui sont soit le séquençage, soit la technique RFLP (Restriction fragment length polymorphism) suivie d'une électrophorèse en gel d'agarose, soit la technique RFLP couplée à la technique DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis). Certains laboratoires utilisent la technique de PCR en temps réel (Real time PCR), qui ne nécessite pas d'étape de révélation (identification).

Démographie de la population ovine en Belgique

On a recensé, en 2005, 152.384 ovins et 4049 exploitations d'ovins (ce nombre d'exploitations est sous-estimé de par le nombre important de hobbyistes dont il n'est pas tenu compte dans le recensement), selon les données de l'Institut national de statistiques. Le nombre d'exploitations est approximativement le double en Flandre qu'en Wallonie. La population ovine belge est donc limitée.

Epidémiosurveillance des EST chez les ovins en Belgique

Le programme d'épidémiosurveillance active belge porte, depuis le 9 juillet 2006, sur 3000 ovins de plus de 18 mois au clos d'équarissage, et sur tous les ovins de plus de 18 mois à l'abattoir. Le CERVA est Laboratoire national de Référence pour cette surveillance active, et est aussi responsable du génotypage de PrP de tous les cas positifs. Il contrôle aussi le codon 141 des trois cas de tremblante atypique Nor98. Finalement, le CERVA a implémenté, en 2005, après approbation par le European Central Reference Laboratory (UK), un test discriminatoire CEA/BioRad (discrimination ESB – tremblante) (Roels *et al.*, 2006). La tremblante et l'ESB sont des maladies à déclaration obligatoire en Belgique depuis 1990. Selon les résultats des tests rapides de dépistage des EST chez les ovins et les caprins, confirmés par les tests classiques, 69 cas (jusqu'au 1^{er} septembre 2006 inclus) d'EST (tremblante) ont été recensés en Belgique depuis 1992 chez les ovins (5 cas en 1992 ; 2 cas en 1997 ; 8 cas en 1998 ; 11 cas en 1999 ; 25 cas en 2002 ; 2 cas en 2003 ; 11 cas en 2004 ; 2 cas en 2005 et trois cas en 2006 (jusqu'au 1^{er} septembre 2006 inclus)). Parmi ces 69 cas, 5 sont des cas atypiques de tremblante (dont 3 cas Nor98 et un cas sensible à la protéinase K). Il s'agit donc de peu de cas dans une population ovine peu nombreuse.

3. Recommandation générale

- Le Comité scientifique est d'avis que le fait de sélectionner les ovins issus de cheptels de valeur génétique élevée sur base de leur génotype ARR/ARR devrait être réalisé sur une base volontaire plutôt qu'obligatoire. En effet, il approuve l'idée que les génotypes VRQ sont des génotypes extrêmement sensibles à la tremblante, et est d'accord avec le principe qu'il vaille la peine de les éliminer. Toutefois, il attire l'attention sur plusieurs points.

Premièrement, les génotypes résistants peuvent être infectés de manière asymptomatique (cas sub-cliniques) et transmettre la maladie sans montrer de signes cliniques, ce qui entraîne le risque d'expansion à long terme de souches hyper-virulentes au sein de cette population résistante. Garder des génotypes VRQ au sein de la population permet de repérer la circulation d'une souche d'EST dans un cheptel lors de la surveillance passive et de prendre des mesures adéquates.

Deuxièmement, comme cela est mentionné dans l'introduction, le génotype ARR/ARR ne protège pas dans tous les cas les ovins d'une infection naturelle par la tremblante, ni d'ailleurs d'infections expérimentales par l'agent de l'ESB.

Troisièmement, bien qu'il n'y ait aucune base scientifique prouvant que l'apparition de tremblante atypique soit liée à l'instauration d'un programme de sélection d'animaux de génotype ARR (EFSA-Q-2005-291), les ovins ARR/ARR restent toujours sensibles à cette forme atypique de la tremblante et peuvent développer la maladie. Vu que, dans cette forme atypique, les signes cliniques se développent tardivement, celle-ci est difficile à diagnostiquer lors de la surveillance passive. Comme ces ovins ne sont par conséquent pas nécessairement éliminés (abattus), il y a possibilité de persistance de ces formes atypiques dans les troupeaux.

Quatrièmement, le Comité scientifique est d'avis qu'il est opportun de maintenir une certaine variabilité génétique au sein de la population ovine en Belgique qui, comme cela est mentionné dans l'introduction, n'est pas grande en Belgique. En effet, la sélection contre les génotypes sensibles à la tremblante va entraîner une diminution du nombre de béliers, et pourrait, de ce fait, favoriser la sélection de certaines lignées familiales d'ovins (trend génétique).

La Décision 2003/100/CE rend pour l'instant cette sélection obligatoire, mais le Comité scientifique recommande le caractère volontaire le jour où une modification du Règlement (CE) N° 999/2001 le prévoira (choix par les Etats membres du caractère volontaire ou obligatoire de cette sélection).

4. Recommandations spécifiques

- Article 1 : Le Comité scientifique suggère d'introduire dans le projet d'arrêté royal les définitions d'allèle et de génotype, appliquées au gène de la protéine prion et au contexte de ce projet d'arrêté. Des propositions de définition seraient les suivantes :
 - allèle : un allèle est défini dans le cadre de cet arrêté royal par la combinaison de 3 acides aminés, représentés chacun par une lettre (par exemple, ARR ou VRQ, A signifiant alanine, R, arginine, V, valine et Q, glutamine) et codés respectivement par les codons 136, 154 et 171 du gène de la protéine prion (PrP) ;
 - génotype : le génotype est la combinaison de deux allèles du gène de la protéine prion (PrP).
- Article 1, points 3°, 4° et 5°. Vu que la sélection prévue dans le projet d'arrêté royal ne concerne que les ovins, le Comité scientifique propose de retirer de ces définitions les termes « caprins » et « cervidés ».

- Article 2, §3, point 2°. Ce point stipule que les animaux mâles qui ne sont pas certifiés dans le cadre du programme d'élevage ne peuvent pas être utilisés à des fins de reproduction. Vu que le terme certifié peut signifier deux choses différentes : (1) certification zootechnique et (2) certification génotypique, le Comité scientifique recommande de remplacer le terme « certifiés » par le terme « génotypés » afin d'éviter toute erreur d'interprétation.
- Article 3, §1^{er}. Le Comité scientifique attire l'attention sur le fait que les modalités des prélèvements d'échantillon (par exemple, la nature du matériel biologique à prélever) ainsi que le type d'analyses de laboratoire concernant le génotypage ne sont pas précisées au niveau du projet d'arrêté royal. En ce qui concerne les méthodes de génotypage notamment, le Comité scientifique souligne la grande diversité qui existe entre les différents laboratoires réalisant ce génotypage. Les procédures des différents laboratoires sont résumées au niveau de l'introduction. De plus, ces méthodes de génotypage peuvent changer en fonction de l'évolution des connaissances techniques et scientifiques ou de l'évolution des exigences de l'Union européenne. Pour ces raisons, il propose, afin de ne pas compliquer le contenu de l'arrêté royal, et afin de pouvoir tenir compte de l'évolution des connaissances techniques, de ne pas introduire la liste de ces modalités du prélèvement et d'analyses de laboratoire au niveau de l'arrêté royal, mais de préciser que « les modalités du prélèvement et les méthodes de génotypage doivent se faire selon les prescriptions déterminées par le Laboratoire national de Référence ».
- Article 4. Dans la première phrase du §1^{er}, il est indiqué que, dans les 6 mois suivant la détermination du génotype, l'exploitant doit faire abattre ou castrer les animaux porteurs de l'allèle VRQ. Dans la deuxième phrase, il est indiqué que ces animaux ne peuvent pas être utilisés à des fins de reproduction et ne peuvent pas quitter l'exploitation vivants, sauf à des fins d'abattage. Afin d'éviter qu'il ne soit interprété, dans cette deuxième phrase, que l'exploitant dispose de 6 mois avant de mettre fin à la reproduction de son animal ou avant l'interdiction de le faire quitter l'exploitation vivant sauf à des fins d'abattage, le Comité scientifique recommande de préciser, au début de cette seconde phrase, le fait que cette mesure s'applique « dès que l'exploitant a la connaissance de la présence d'un allèle VRQ ».
- Article 6, §2, point 2°. Ce point stipule que, en vue de tester les animaux âgés de plus de 18 mois pour la présence d'une EST, un échantillonnage aléatoire par le vétérinaire officiel peut être pris, en plus de l'abattoir, dans les usines de transformation de catégorie 1 ou 2. Le Comité scientifique attire l'attention sur le fait que ceci sera en pratique difficile à organiser à cause du fait, entre autre, que les données de transport vers les usines ne sont pas centralisées, et que cela risque de poser un problème de traçabilité.
- Annexe I, point 2. Ce point indique les mentions minimales qui doivent se trouver sur le document de prélèvement. Le Comité scientifique attire l'attention sur le troisième tiret, qui demande une mention concernant le cheptel de valeur génétique élevée, sans préciser le type de donnée (numéro ? identification ?) qu'il faut introduire concernant ces cheptels, ce qui pourrait entraîner des erreurs d'interprétation.
- Annexe II. Cette annexe présente un modèle de certificat pour la communication du génotype. Le terme « PrP », qui n'est pas défini antérieurement au niveau de l'arrêté, apparaît pour la première fois. Le Comité scientifique propose d'introduire ce terme « PrP » dans la définition d'allèle et de génotype, à l'article 1 (voir recommandation spécifique, premier point, de l'avis). Il propose également, dans la case se trouvant à côté de la case génotype, d'introduire l'information suivante : « ... / ... » afin que

l'entièreté du génotype (2 allèles représentés chacun par 3 lettres (acides aminés)) y soit mentionnée.

5. Points d'attention

- Article 6. Cet article mentionne que, sur demande du responsable, l'Agence accorde une reconnaissance de la résistance aux EST au cheptel de valeur génétique élevée ou au troupeau qui satisfait aux critères basés sur la présence du génotype ARR/ARR (niveau I) ou sur la descendance à partir de béliers de génotype ARR/ARR (niveau II). Le Comité scientifique attire l'attention sur le fait que la notion de « reconnaissance de la résistance aux EST du cheptel/troupeau » risque de donner aux éleveurs une fausse impression de sécurité quant à ce caractère résistant. En effet, comme cela est mentionné dans l'introduction, la présence d'allèles ARR ne signifie pas que le cheptel/troupeau ne peut pas être infecté par l'agent de l'EST, même si la maladie apparaît plus tardivement (Ikeda *et al.*, 1995 ; Houston *et al.*, 2003). La reconnaissance d'un niveau de résistance aux EST d'un cheptel donné ne doit donc pas être considéré comme un critère requis pour exclure la présence d'une EST au sein de ces cheptels/troupeaux.
- Article 6. Cet article stipule que, afin de vérifier si les cheptels ou troupeaux satisfont de manière permanente aux critères exigés par les niveaux de reconnaissance accordés, les ovins de ces cheptels ou troupeaux sont soumis à un échantillonnage aléatoire par le vétérinaire officiel. Sans changer le contenu du projet d'arrêté royal, le Comité scientifique attire l'attention sur le fait qu'il faille prévoir des instructions pour ces vétérinaires quant au nombre de tests à effectuer et à répartir sur tout le territoire.

6. Conclusion

Le Comité scientifique approuve le projet d'arrêté royal qui lui a été soumis moyennant la prise en compte des recommandations mentionnées ci-dessus.

Au nom du Comité scientifique,
Le Président,

Prof. Dr. Ir. André Huyghebaert

Bruxelles, le 18 septembre 2006

Références

Agence française de sécurité sanitaire des aliments. Communiqué de presse de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à la mise en évidence de cas de tremblante chez des animaux de génotype résistant ARR/ARR. 9 janvier 2004, [28/05/04] (<http://www.afssa.fr/ftp/afssa/actu/CommuniqueARR90104.pdf>).

Andreoletti, O., Morel N., Lacroux C., Rouillon V., Barc C., Tabouret G., Sarradin P., Berthon P., Bernardet P., Mathy J., Lugan S., Costes P., Corbiere F., Espinosa J. C., Torres J. M., Grassi J., Schelcher F. and Lantier F. Bovine spongiforme encephalopathy agent in spleen from an ARR/ARR orally exposed sheep. *J. Gen. Virol.* **2006**, 87: 1043-6.

Baylis M., and Goldmann W. The genetics of scrapie in sheep and goats. *Curr. Mol. Med.*, **2004**, 4:385-96.

Bellworthy S. J., Hawkins S. A., Green R. B., Blamire I., Dexter G., Dexter I., Lockey R., Jeffrey M., Ryder S., Berthelin-Baker C. and Simmons M. M. Tissue distribution of bovine spongiform encephalopathy infectivity in Romney sheep up to the onset of clinical disease after oral challenge. *Vet. Rec.* **2005**, 156: 197-202.

Buschmann A., Lükhen G., Schultz J., Erhardt G., Groschup M. H. Neuronal accumulation of abnormal prion in sheep carrying a scrapie-resistant genotype (PrP^{ARR/ARR}). *J. Gen. Virol.* **2004a**, 85: 2727-33.

Buschmann A., Biacabe A. G., Ziegler U., Bencsik A., Madec J.Y., Erhardt G., Lühken G., Baron T., and Groschup M. H. Atypical scrapie cases in Germany and France are identified by discrepant reaction patterns in BSE rapid tests. *J. Virol. Meth.* **2004b**, 117: 27-36.

Chatelain J., Delasnerie-Laupetre N., Cathala F., and Brown P. Scrapie in France: Some possible predisposing factors in the naturally acquired disease of sheep. *Vet. Microbiol.* **1983**, 8: 511-15.

De Bosschere H., Roels S., Dechamps P., De Filette M., en Vanopdenbosch E. Diagnose van het tweede TSE-geval bij een schaap met een scrapieresistent genotype in België. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, **2005**, 74: 446-51.

De Bosschere H., Roels S., Dechamps P., Vanopdenbosch E. TSE detected in a Belgian ARR-homozygous sheep via active surveillance. *Vet. Journal In press, Corrected Proof, Available online 5 October 2005*.

EFSA-Q-2005-291: Opinion on the Breeding programme for TSE resistance in sheep (http://www.efsa.europa.eu/en/science/biohaz/biohaz_opinions/ej382_breeding_sheep_tse.html).

Gonzalez L., Martin S., Houston F. E., Hunter N., Reid H. W., Bellworthy S. J. and Jeffrey M. Phenotype of disease-associated PrP accumulation in the brain of bovine spongiform encephalopathy experimentally infected sheep. *J. Gen. Virol.* **2005**, 86: 827-38.

Hill A.F., Joiner S., Linehan J., Desbruslais M., Lantos P.L. and Collinge J. Species-barrier-independent prion replication in apparently resistant species. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2000**, 97, 10248-53.

Houston F., Goldmann W., Chong A., Jeffrey M., Gonzalez L., Foster J., Parnham D., Hunter N. Prion diseases: BSE in sheep bred for resistance to infection. *Nature* **2003**, 423: 498.

Hunter N. Scrapie and experimental BSE in sheep. *Br. Med. Bull.* **2003**, 66:171-83.

Ikeda T., Horiuchi M., Ishiguro N., Muramatsu Y., Kai-Uwe G. D., Shinagawa M. Amino acid polymorphisms of PrP with reference to onset of scrapie in Suffolk and Corriedale sheep in Japan. *J. Gen. Virol.* **1995**, 76: 2577-81.

Moum T., Olsaker I., Hopp P., Moldal T., Valheim M., Moum T., Benestad S. L. Polymorphisms at codons 141 and 154 in the ovine prion protein gene are associated with scrapie Nor98 cases. *J. Gen. Virol.* **2005**; 86: 231-5.

Novakofski J., Brewer M. S., Mateus-Pinilla N., Killefer J. and McCusker R. H. Prion biology relevant to bovine spongiform encephalopathy. *J. Anim. Sci.* **2005**, 83: 1455-76.

Online Mendelian Inheritance in Animals ; OMIA ; Spongiform encephalopathy in *Ovis aries*; ID: 000944 (<http://omia.angis.org.au/retrieve.shtml?pid=1646>).

Redman C. A., Coen P. G., Matthews R. M., Lewis, R. M., Dingwall W. S., Foster J. D., Chase-Topping M. E., Hunter N., and Woolhouse M. E. Comparative epidemiology of scrapie outbreaks in individual sheep flocks. *Epidemiol. Infect.* **2002**, 128 : 513-21.

Roels S., De Bosschere H., Geeroms R. and Vanopdenbosch E. TSE surveillance in small ruminants in Belgium. Poster during the International Conference on Prion Diseases of Domestic Livestock, London, UK, 28-30th May **2006**, abstractbook p.62-3.

Schreuder B. E. C. General aspects of spongiform encephalopathies and hypotheses of the agents. *Vet. Q.* **1994**, 15: 167-74.

Thiry E., Saegerman C., Xambeu L., and Penders J. Current status of transmissible spongiform encephalopathies in ruminants. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. **2004**, 8: 221-8.

Tranulis M. A., Influence of the prion protein gene, Prnp, on scrapie susceptibility in sheep. *APMIS* **2002**, 110: 33-43.