

Maisons-Alfort, le 13 juillet 2010

Le directeur général

AVIS

de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à la politique de sélection génétique des ovins à long terme pour la résistance aux EST

1. RAPPEL DES SAISINES

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 18 juin 2009 par la Direction Générale de l'Alimentation d'une demande d'avis sur la politique de sélection génétique des ovins à long terme pour la résistance aux EST.

Ultérieurement, l'Afssa a également été saisie le 11 décembre 2009 sur un projet d'arrêté visant à augmenter la fréquence de l'allèle ARR dans la population ovine de production.

2. CONTEXTE

La sensibilité génétique à la tremblante classique a été utilisée pour lutter contre les EST chez les ovins par la mise en œuvre depuis 2002 d'un programme d'amélioration génétique pour la résistance à la tremblante classique .

L'Afssa a fréquemment souligné dans ses avis l'intérêt du programme d'amélioration génétique et de sa poursuite à court et moyen termes.

Dans une saisine en date du 18 juin 2009, la DGAI interroge l'Afssa sur les orientations qui peuvent être suivies à long terme en matière de sélection génétique au regard du risque que représentent les EST chez les petits ruminants. La DGAI évoque notamment la tremblante atypique dont les règles de sensibilité génétique semblent différer de celle de la tremblante classique.

Dans une nouvelle saisine en date du 11 décembre 2009, la DGAI interroge également l'Afssa sur un projet d'arrêté imposant l'utilisation exclusive de béliers de renouvellement de génotype homozygote ARR (allèle de résistance à la tremblante classique) à tout élevage ovin. En effet, le programme de sélection génétique n'a eu, pour l'instant, qu'un impact très limité sur l'augmentation de la fréquence des porteurs d'allèles ARR dans la population générale ovine.

Au regard des similitudes de ces dossiers, les deux saisines sont traitées dans un avis commun.

Ainsi, il est demandé à l'Afssa, compte tenu de la complexité des phénomènes de sensibilité génétique et l'existence de plusieurs souches de tremblante :

- d'évaluer l'efficacité, en termes de santé publique et de santé animale, d'une politique qui, comme c'est le cas actuellement, ne sélectionnerait à long terme que l'allèle ARR et n'éliminerait que l'allèle VRQ (allèle de sensibilité à la tremblante classique) par opposition à une politique qui favoriserait la sélection ou l'éviction d'autres allèles.
- de se prononcer sur la pertinence de rechercher une population entièrement homozygote résistante (ARR/ARR) à la tremblante classique et de proposer le cas échéant une autre politique de sélection génétique.
- de se prononcer sur la pertinence d'un arrêté imposant à tous les éleveurs de n'utiliser que des béliers de renouvellement ARR/ARR ou de la semence provenant de tels béliers.

3. METHODE D'EXPERTISE

L'expertise collective, initiée en septembre 2009, a été réalisée par le Comité d'experts spécialisés (CES) « ESST » ; son avis ayant été validé par courrier électronique le 29 juin 2010.

Pour fonder son opinion, le Comité s'est appuyé sur l'ensemble des connaissances acquises en matière de résistance aux différentes formes de tremblante, ainsi que sur les résultats du programme d'amélioration génétique mis en place en France depuis 2002.

4. ARGUMENTAIRE

L'argumentaire de l'Anses est fondé sur l'avis du Comité d'experts spécialisé «ESST» dont les éléments sont présentés ci-dessous :

1. Contexte

- a. Effet des polymorphismes aux codons 136, 154 et 171 du gène *PRNP*.
 - i. Sensibilité à l'infection

Chez les ovins, certains des polymorphismes du gène *PRNP* (gène de la protéine prion) ont un effet majeur sur la sensibilité/résistance aux EST. En matière de tremblante classique et d'ESB les polymorphismes aux codons 136 (A ou V), 154 (R ou H) et 171 (R, Q ou H) du gène *PRNP* ont été identifiés dès le milieu des années 90 comme influençant fortement la sensibilité à l'infection des ovins (Clouscard *et al.*, 1995; Hunter *et al.*, 1996).

Les animaux de génotype VRQ/VRQ, ARQ/VRQ et ARQ/ARQ sont considérés comme les plus sensibles aux agents de la tremblante classique, alors que les individus homozygotes ou hétérozygotes ARR et AHQ ne montrent qu'une sensibilité marginale. Les animaux porteurs d'un allèle AHQ et les animaux ARQ/ARQ sont considérés comme les plus sensibles à l'infection (expérimentale) par l'ESB alors que les animaux VRQ/VRQ semblent moins sensibles à cet agent. Les animaux ARR/ARR sont considérés comme très résistants à l'infection par ces agents (Hunter *et al.*, 1997; Hunter *et al.*, 1996).

Toutefois, plusieurs cas naturels d'infection par des agents de la tremblante classique ont été rapportés chez des animaux ARR/ARR (Groschup *et al.*, 2007 ; Ikeda *et al.* 1995) indiquant que certains des agents responsables de cette maladie ont la capacité intrinsèque de se développer chez des animaux considérés jusqu'alors comme résistants.

Par ailleurs, (i) l'ESB bovine de type classique peut être transmise par voie intracérébrale aux animaux ARR/ARR (Houston *et al.*, 2003) et (ii) l'ESB classique adaptée à l'espèce ovine infectée de façon efficace par voie orale les animaux de ce génotype (Lantier *et al.*, Neuroprion Madrid 2008).

En matière de tremblante atypique, le déterminisme génétique de la sensibilité chez les ovins est radicalement différent de celui observé en tremblante classique ou pour l'ESB classique. Un sur-risque majeur de développer la maladie est associé aux allèles AHQ et AF141RQ, alors que les animaux de génotype ALRQ/ALRQ et VRQ/VRQ semblent moins à risque. Les animaux ARR (homozygotes ou hétérozygotes) peuvent développer la maladie et l'allèle ARR ne semble pas apporter de résistance particulière à la maladie (Arsac *et al.*, 2007; Moreno *et al.*, 2007; Moum *et al.*, 2005).

Tout ceci illustre que la capacité d'un agent des EST à se développer chez un ovin porteur de polymorphismes particuliers du gène *PRNP* dépend des interactions entre les propriétés biologiques de cet agent (caractères de souches) et ces polymorphismes.

Compte tenu des éléments disponibles, l'hypothèse de l'existence ou l'émergence future d'un agent des EST capable de se développer efficacement chez des ovins hétérozygotes ou homozygotes ARR ne doit pas être négligée.

En l'état actuel des connaissances, aucun des allèles du gène *PRNP* ovin ne peut être considéré comme conférant une résistance totale à l'infection naturelle par les agents des EST circulant dans les populations de ruminants.

ii. Allèle ARR et réduction des risques d'exposition alimentaire.

En conditions naturelles d'exposition à la tremblante classique (même dans le cas d'une très forte pression infectieuse), la prévalence chez les animaux hétérozygotes ARR reste très faible (Elsen *et al.*, 1999).

Chez ces animaux, lorsque la contamination est effective, la dissémination de l'agent infectieux dans les tissus périphériques demeure limitée. Dans ce contexte, l'application des mesures de retrait des MRS limite efficacement les risques de contamination de la chaîne alimentaire (Van Keulen *et al.*, 1996 – Androletti *et al.*, 2002)

Par ailleurs, il a été établi que les brebis hétérozygotes ARR infectées ne disséminent pas l'agent de la tremblante via leur placenta, ce qui limite les risques de contamination environnementale et inter-individuelle (Lacroux *et al.*, 2007).

Ce phénomène conjugué à la grande résistance des animaux ARR à l'infection est une explication plausible à l'observation d'une diminution rapide des nouvelles contaminations, dans les troupeaux atteints de tremblante classique lors de l'introduction de l'allèle ARR (Corbière *et al.*, 2008 ; Hagenaars *et al.*, 2010).

Enfin, les animaux hétérozygotes ARR semblent plus résistants à l'infection par l'agent de l'ESB que les animaux homozygotes ARR (Lantier *et al.*, 2008, Neuroprion, Madrid).

L'ensemble de ces éléments suggère qu'en termes :

- (i) de maîtrise de la tremblante classique dans les troupeaux atteints,
- (ii) de prévention de la tremblante classique ou de l'ESB,
- (iii) de réduction des risques d'exposition du consommateur aux agents des EST,

les différences effectives entre animaux hétérozygotes ARR et homozygotes ARR ne sont que marginales.

b. Variabilité du gène *PRNP* ovin (hors codons 136,154 et 171) et résistance aux EST

Les premières études cas / témoins visant à confirmer l'effet des différents allèles du gène *PRNP* ont permis de démontrer la forte influence des codons 136, 154 et 171 sur la sensibilité à la tremblante. La plupart des travaux ultérieurs se sont focalisés sur ces trois codons (Hunter *et al.*, 1996; Hunter *et al.*, 1997). Des investigations plus récentes s'intéressent désormais à d'autres polymorphismes : l'effet des polymorphismes M/T112 et P/L168 ont par exemple été décrits. Ces deux polymorphismes semblent associés à un effet protecteur plus élevé chez les hétérozygotes que celui de l'allèle ARR sur l'infection (par voie orale ou intracérébrale) par l'agent de l'ESB (Saunders *et al.*, 2009 ; Goldmann *et al.*, 2006). De manière similaire plusieurs polymorphismes (codons 137 et 176) ont été décrits comme conférant un niveau de résistance marqué à l'infection naturelle par la tremblante classique (Vaccari *et al.*, 2009).

En matière de tremblante atypique, l'identification de l'effet du polymorphisme F141 sur la sensibilité à la maladie illustre là encore l'importance que les polymorphismes autres que ceux situés en position 136, 154 et 171 de la PrP peuvent avoir (Moreno *et al.*, 2007 ; Moum *et al.*, 2005).

Il ne saurait être exclu que certains polymorphismes jusqu'alors non explorés soient associés à un risque diminué (ou nul) de développer la tremblante et/ou d'autres formes d'EST. La méconnaissance actuelle de l'effet de la plupart des polymorphismes du gène *PRNP* sur la capacité à propager les différents agents des EST nous prive potentiellement d'outils alternatifs à la sélection de l'allèle ARR pour la lutte génétique contre les EST.

c. Conclusions

La réflexion de l'Anses sur la sélection génétique s'est limitée au cas de la tremblante classique pour laquelle l'outil de l'amélioration génétique se justifie.

- La sélection de l'allèle ARR reste aujourd'hui la meilleure approche disponible pour la prévention et la lutte contre la tremblante classique dans les populations ovines. Toutefois, cet allèle ne permet pas de prévenir le développement de la tremblante atypique.
- L'hypothèse de l'existence ou l'émergence future d'un agent des EST capable de se propager efficacement chez des ovins hétérozygotes ou homozygotes ARR ne doit pas être négligée.
- D'autres allèles du gène *PRNP* (polymorphismes autres que ceux connus aux positions 136-154 et 171) pourraient représenter dans le futur des solutions alternatives ou complémentaires à la sélection de l'allèle ARR pour la lutte et la prévention vis vis-à-vis des EST ovines.

2- Evolution génétique dans la population ovine.

a. Description et bilan du plan national d'amélioration génétique de la résistance à la tremblante (PNAGRT)

Le PNAGRT et son bilan actuel sont détaillés en annexe.

Le plan a été mis en place en 2002 et vient d'être reconduit en octobre 2009 pour une durée de trois ans. Plus de 670 000 génotypages ont été réalisés depuis le début du plan (entre 2002 et 2009).

C'est sur les noyaux de sélection (voir annexe) de chaque race que s'effectue le travail d'amélioration génétique. A partir de cette population, les progrès génétiques réalisés diffusent dans les populations générales (vente d'agnelles mais surtout utilisation de béliers ou de semence par insémination artificielle).

A titre indicatif, pour les brebis laitières, sur une population de 1, 2 millions de têtes, 65% font partie des noyaux de sélection, alors que pour les brebis allaitantes, sur une population de 4,45 millions, ce chiffre n'est que de 6,9%.

En ce qui concerne les élevages de sélection, on note que :

- l'allèle VRQ a connu une diminution très importante de sa fréquence ;
- l'allèle ARR a connu une augmentation très importante de sa fréquence. La fréquence de cet allèle est aujourd'hui proche de 100 % chez les races bouchères, supérieure à 70 % chez les autres races allaitantes. Chez les races laitières, cette fréquence va actuellement de 60 % (race Corse) à 100 % (Lacaune).

En ce qui concerne les élevages de production, nous ne disposons pas de données très précises et fiables sur l'évolution des différents génotypes. La seule source provient du génotypage annuel d'un échantillon d'ovins testés en abattoir (programme communautaire, voir tableau 1 ci-dessous). Cet échantillon est de taille réduite, il ne prend pas en compte la race des individus testés (paramètre crucial compte tenu de l'organisation par race du système de sélection) et sa représentativité demeure sujette à caution.

Tableau 1 : fréquences alléliques ARR, ARQ, AHQ et VRQ par année chez les ovins toutes races confondues et tous programmes confondus (abattoir et équarrissage) (analyse du programme 2009 de surveillance active de la tremblante chez les petits ruminants, Afssa Lyon).

	années							
	2002 n = 483	2003 n = 332	2004 n = 857	2005 n = 923	2006 n = 800	2007 n = 319	2008 n = 631	2009 n = 682
% ARR	45%	44%	44%	46%	53%	50%	48%	56%
% ARQ	46%	47%	47%	44%	41%	43%	43%	37%
% VRQ	6%	6%	7%	7%	4%	5%	6%	5%
% AHQ	3%	2%	2%	3%	2%	2%	3%	2%

Au-delà de ces réserves, au vu des données obtenues par ce système, il ne semble pas que les fréquences des différents allèles dans les populations générales aient été, à ce stade, significativement affectées par le PNAGRT.

Ce phénomène peut être attribué au mode de diffusion de l'allèle ARR choisi pour la mise en œuvre du PNAGRT. En effet la diffusion passive d'un caractère depuis la population de sélection vers les populations générales est un processus qui requiert de 5 à 10 ans.

Toutefois, l'augmentation de la proportion de béliers ARR/ARR (30 % en 2002 à 90 % en 2009) vendus par les élevages de sélection aux élevages de production, illustre les effets de la politique de sélection.

b. Perspective d'évolution génétique de la population ovine française.

Comme évoqué ci-dessus, nous ne disposons pas d'estimations précises de l'évolution des fréquences alléliques dans les élevages de production. La modélisation qui suit vise à donner un ordre de grandeur des échéances dans les élevages hors noyau de sélection. Les paramètres déterminants seront :

- le temps au bout duquel la fréquence de l'allèle ARR dépassera un seuil permettant au paramètre R_0^1 de passer en dessous de 1 (quand $R_0 < 1$, la maladie ne peut pas se développer dans une population donnée) (suivant Man *et al*, 2009, nous retiendrons la valeur de 0,7 pour illustration),
- le temps au bout duquel la fréquence de l'allèle ARR dépassera 0,95, rendant difficile un retour en arrière si cet allèle devait finalement être contre sélectionné (en toute rigueur il conviendrait de quantifier cette durée de retour en arrière selon les scénarii).

Si t_f et t_m sont les taux de renouvellement des mâles et des femelles dans les élevages de production, et si p_m et p_f sont les proportions de ces renouvellements qui s'opèrent par l'achat de béliers ou brebis ARR/ARR aux élevages de sélection, la fréquence de l'allèle ARR chez les mâles (f_m) et chez les femelles (f_f) s'obtient par itération :

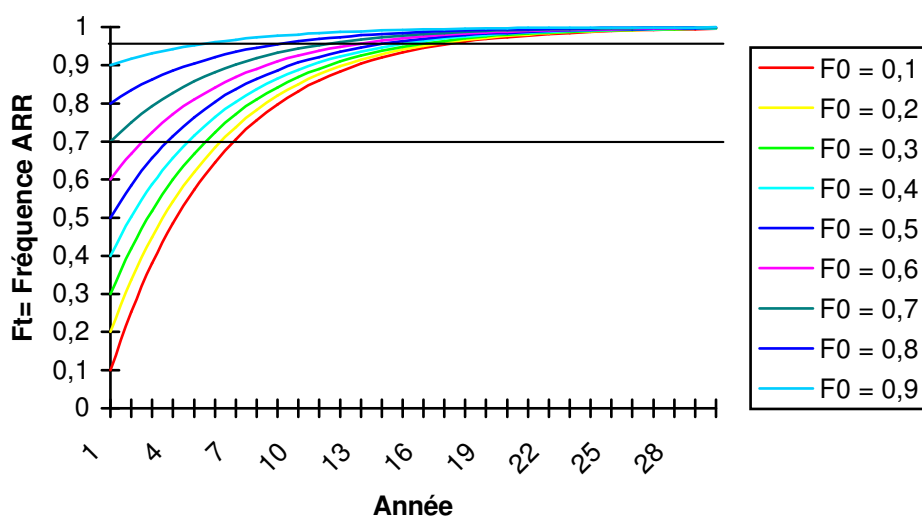
¹ R_0 correspond au nombre de nouveaux cas d'EST générés par un animal déjà infecté.

$$f_{m_t} = (1-t_m) f_{m_{t-1}} + t_m \cdot [p_m \cdot 1 + (1-p_m) \cdot \frac{1}{2} (f_{m_{t-1}} + f_{f_{t-1}})]$$

$$f_{f_t} = (1-t_f) f_{f_{t-1}} + t_f \cdot [p_f \cdot 1 + (1-p_f) \cdot \frac{1}{2} (f_{m_{t-1}} + f_{f_{t-1}})]$$

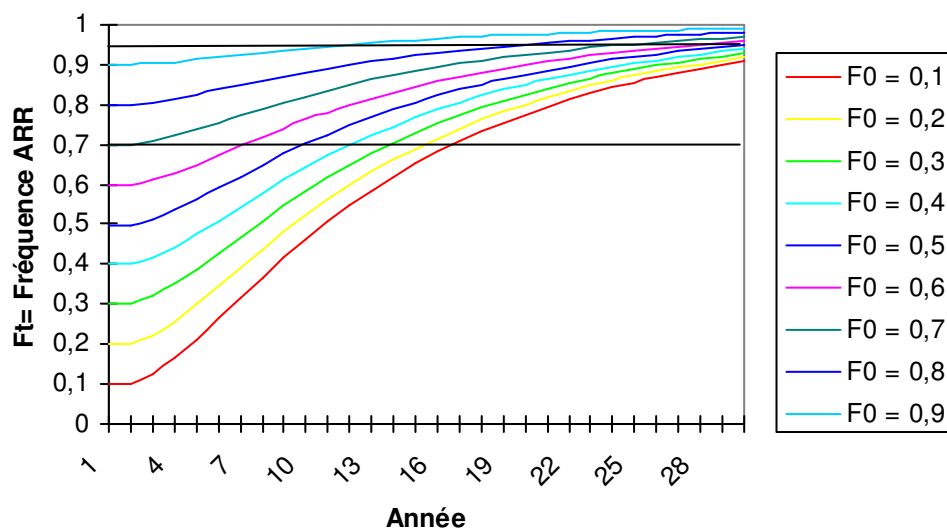
Les figures 5a,b,c donnent quelques exemples d'évolution de la fréquence de l'allèle ARR, selon sa fréquence initiale F0. Les taux de renouvellement sont de 1/3 pour les béliers et 1/6 pour les brebis. Le premier scénario suppose un renouvellement intégral à partir des bases de sélection, en mâle comme en femelle.

Figure 5a
Evolution de la fréquence de l'allèle ARR dans la population commerciale
100 % des béliers issus des élevages de sélection
100 % des brebis issues des élevages de sélection



Dans ce cas extrême il faut moins de 8 ans pour que l'ensemble des races possède une fréquence de l'allèle ARR supérieure à 70 %, et le seuil de 95 % est atteint entre la 7^{ème} et la 20^{ème} année. Sachant que la diffusion des femelles est difficile à organiser, le scénario suivant se limite à la seule diffusion des béliers.

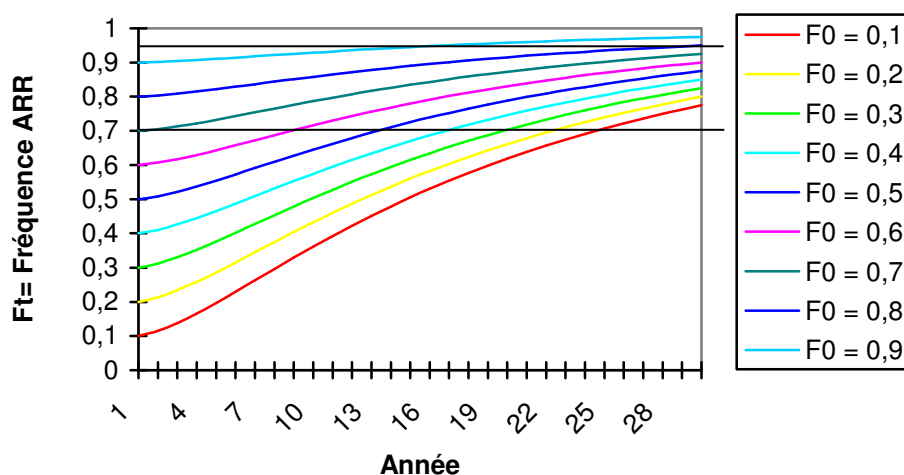
Figure 5b
Evolution de la fréquence de l'allèle ARR dans la population commerciale
100 % des béliers issus des élevages de sélection
0 % des brebis issues des élevages de sélection



Dans ce cas il faut jusqu'à 18 ans pour obtenir une protection de toutes les races (> 70 % d'allèles ARR), et le seuil de 95 % n'est dépassé au bout de trente ans que si la fréquence initiale est déjà supérieure à 50 %.

Enfin, la figure 5c montre une situation plus réaliste (en moyenne) dans laquelle 40 % des besoins en béliers et 10 % des besoins en agnelles sont satisfaits par des achats aux sélectionneurs.

Figure 5c
Evolution de la fréquence de l'allèle ARR dans la population commerciale
40 % des béliers issus des élevages de sélection
10 % des brebis issues des élevages de sélection



Dans ce cas il faut au moins 25 ans pour parvenir au seuil de 0,70 et seules les races à très forte fréquence initiale (0,9) dépassent au bout de trente ans la barre des 95 %.

Ces simulations simples donnent des estimations du temps nécessaire pour obtenir une certaine proportion d'allèle de résistance ARR, en fonction de la stratégie utilisée (utilisation exclusive de mâles et femelles ARR, utilisation de mâles ARR uniquement, stratégie mixte), et en fonction de la situation de départ dans une race donnée.

Cette simulation souligne :

- l'importance de la connaissance de la structure génétique initiale d'une population d'animaux donnée, qui seule permet d'adapter la stratégie de sélection à l'objectif visé (vitesse d'atteinte du seuil) ;
- le fait que toute stratégie visant à introduire une certaine proportion de béliers ARR (dans ce cas entre 40 et 100 %), de manière systématique et continue, aboutit asymptotiquement à une population contenant 100 % d'allèle ARR.

c. Conclusions

Le dispositif actuel de sélection et de diffusion de l'allèle ARR :

- risque d'aboutir très rapidement dans les noyaux de sélection de certaines races ovines à une fixation² difficilement réversible de cet allèle.
- ne devrait pas conduire à une fixation de cet allèle dans les populations générales avant plusieurs années.

² Lorsqu'il ne reste plus qu'un seul allèle présent dans la population.

3 Quels objectifs pour la sélection génétique vis-à-vis de la tremblante classique ?

La sélection de l'allèle ARR apparaît comme un moyen efficace :

- de prévention et d'éradication (troupeaux atteints) de la tremblante classique dans les populations ovines,
- de prévention des risques d'exposition alimentaire à la tremblante classique ovine.

En conséquence, l'intérêt de mettre en œuvre un programme de sélection visant à accroître la fréquence de l'allèle ARR dans la population générale ovine ne paraît pas discutable.

Toutefois, au-delà de ce principe, plusieurs options sont envisageables en fonction des objectifs poursuivis :

a. Prévention et maîtrise de la tremblante dans la population ovine

Dans les troupeaux infectés par la tremblante classique, il est admis depuis plusieurs années qu'il n'est pas nécessaire d'atteindre une fréquence de 100% de porteurs d'allèle ARR pour assurer la maîtrise de la maladie. Selon ce concept, au-delà d'une certaine fréquence d'animaux porteurs de l'allèle ARR, le nombre de cas secondaires que peut engendrer un animal infecté au cours de sa vie devient inférieur à 1 et la maladie ne peut se propager. De manière similaire, dans un troupeau sain doté d'une telle structure génétique, l'introduction d'un animal en incubation ou la survenue d'une contamination (liée à l'environnement ou par le biais d'aliments contaminés) ne permettra pas la propagation de la maladie.

Actuellement, une seule étude de modélisation (Man *et al.*, 2009) visant à déterminer les conditions nécessaires à l'obtention d'un R_0 (nombre reproductif de base) inférieur à 1 est disponible ; cette étude indique que lorsque 70 % des animaux sont porteurs d'un allèle ARR la maladie ne peut se propager.

Toutefois cette étude n'ayant porté que sur un seul troupeau infecté, il serait prématuré de retenir, de façon générale, la fréquence de 70% de porteurs d'allèle ARR comme valeur cible.

Dans l'hypothèse où une telle approche serait retenue, il conviendrait donc au préalable d'estimer cette valeur cible par des études prospectives dédiées.

La mise en œuvre d'un programme de sélection génétique visant à atteindre une telle fréquence devrait permettre d'assurer une prévention efficace contre le développement de la tremblante dans les populations tout en autorisant le maintien d'une diversité des allèles du gène *PRNP*.

Cette approche ne garantit toutefois pas une maîtrise totale des risques d'exposition alimentaire à la tremblante (entrée potentielle dans la chaîne alimentaire d'animaux positifs non porteurs d'un allèle ARR).

b. Maîtrise des risques d'exposition alimentaire à la tremblante ovine

Si l'objectif est d'utiliser la sélection génétique pour maîtriser avec le plus haut niveau possible de certitude l'exposition alimentaire aux agents des EST issus des petits ruminants, la mise à la consommation des seuls animaux porteurs de l'allèle ARR apparaît en l'état actuel des connaissances comme la solution la mieux adaptée. Dans cette optique une structure de population où 100% des individus des troupeaux de production seraient porteurs de cet allèle semble la plus pragmatique, si l'on ne considère que l'outil sélection génétique objet de la saisine³. Toutefois, à terme, un tel scénario implique une fixation de l'allèle ARR dans les populations ovines. Dans l'hypothèse de l'émergence et du développement d'un agent adapté à l'allèle ARR, nos capacités à modifier la structure génétique d'une telle population seraient limitées.

³ Il est à noter qu'une autre approche a été évoquée dans un précédent avis du Comité (avis de l'Afssa du 7 mai 2009), combinant les connaissances génétiques d'un troupeau à l'utilisation de tests rapides.

5. CONCLUSIONS

Concernant l'utilisation de l'outil génétique pour le contrôle de la tremblante classique, l'Anses confirme la pertinence d'un programme de sélection visant à accroître la fréquence de l'allèle ARR et à décroître celle de l'allèle VRQ dans un but :

- i) de contrôle de la tremblante classique dans les troupeaux atteints,
- ii) de diminution de la sensibilité globale de la population ovine française vis-à-vis de la tremblante classique,
- iii) de diminution et de prévention des risques d'exposition alimentaire aux agents de la tremblante classique.

Ces objectifs ne doivent cependant pas conduire à négliger les risques d'émergence d'autres EST chez les ovins, qui n'obéiraient pas au même déterminisme génétique.

Quelle que soit la stratégie de diffusion retenue et les objectifs fixés, en termes de fréquence de l'allèle ARR dans la population générale ovine, plusieurs années seront nécessaires pour les atteindre. A l'opposé, l'évolution rapide de la fréquence de l'allèle ARR dans les noyaux de sélection, impose la mise en œuvre immédiate d'un dispositif de sauvegarde de la diversité des allèles PrP autres que l'allèle ARR dans les différentes races ovines.

En conséquence et dans l'immédiat, l'Anses considère que :

- la diffusion de l'allèle ARR dans la population générale ovine, pour contrôler et prévenir les EST contre lesquelles cet allèle est efficace doit se poursuivre.
- un dispositif de sauvegarde de la diversité des allèles PrP, en particulier dans les noyaux de sélection des différentes races ovines, doit être déployé dès à présent

L'Anses recommande que, dans le même temps, une réflexion soit menée afin de définir les objectifs à moyen et long terme du programme de lutte génétique contre les EST ovines. Compte tenu des conséquences potentielles des choix retenus, cette démarche apparaît comme un préalable indispensable à la mise en œuvre d'une stratégie adaptée de diffusion de l'allèle ARR dans les populations ovines.

Concernant l'utilisation exclusive de la voie mâle pour la diffusion de l'allèle ARR ou d'une stratégie alternative (combinaison des voies mâle et femelle par exemple) l'Anses considère qu'il est prématuré d'opérer un choix avant que les objectifs en matière de sélection n'aient été fixés (cf. chapitre 5.3)

Enfin, l'Anses estime que la forte résistance des porteurs d'allèle ARR à l'infection par les souches de tremblante classique circulant ne doit pas faire négliger l'étude des mécanismes que d'autres polymorphismes du gène *PRNP* pourraient avoir en matière de sensibilité aux agents des EST, en particulier vis-à-vis de la tremblante atypique. Ainsi, au-delà de la simple sauvegarde d'une diversité des allèles, une exploration rationnelle de leur impact sur la résistance/sensibilité des ovins aux principaux agents des EST (tremblante classique /ESB/ tremblante atypique) est recommandée.

En réponse aux questions initiales de la DGAI :

- 1) *Evaluation de l'efficacité, en termes de santé publique et de santé animale, d'une politique qui, comme c'est le cas actuellement, ne sélectionnerait à long terme que l'allèle ARR et n'éliminerait que l'allèle VRQ par opposition à une politique qui favoriserait la sélection ou l'éviction d'autres allèles.*

La sélection génétique visant à accroître la fréquence de l'allèle ARR et réduire celle de l'allèle VRQ apparaît en l'état actuel des connaissances comme un moyen efficace de limiter les risques (en santé animale et publique) associés à la tremblante classique.

2) *Pertinence de rechercher une population entièrement homozygote résistante (ARR/ARR) à la tremblante classique et proposition éventuelle d'une politique de sélection génétique alternative.*

L'Anses considère que la pertinence de la proposition est directement liée aux objectifs opérationnels de la politique poursuivie. Différents scénarii ont été évoqués dans cet avis (maîtrise de l'exposition du consommateur / maîtrise et prévention de la maladie dans les populations ovines).

Il appartient aux gestionnaires du risque de définir quels sont les objectifs précis en terme de santé animale et /ou de santé publique poursuivis.

Une politique de sélection génétique qui viserait à obtenir une population entièrement homozygote ARR, pourrait exposer cette même population au développement d'EST pour lesquelles cet allèle n'apporterait pas un niveau de résistance suffisant ou pourrait présenter une sensibilité accrue. Par ailleurs, elle pourrait nous priver des ressources génétiques nécessaires pour enrayer ce phénomène.

La politique de sélection de l'allèle ARR menée au cours de la décennie écoulée a eu d'ores et déjà pour conséquence une augmentation très significative de la fréquence de cet allèle dans les noyaux de sélection des races ovines et un appauvrissement de la diversité des autres allèles.

Il apparaît par conséquent indispensable de déployer sans tarder un dispositif de maintien de la variabilité des allèles PrP dans les noyaux de sélection des différentes races ovines.

3) *Pertinence d'un arrêté imposant à tous les éleveurs de n'utiliser que des béliers de renouvellement ARR/ARR ou de la semence provenant de tels béliers.*

Un tel arrêté serait de nature à accélérer la diffusion de l'allèle ARR dans la population générale (avec les avantages mais également les risques du dispositif). Bien que, dans l'hypothèse où cet arrêté serait mis en œuvre, plusieurs années seraient nécessaires à une modification significative de la structure génétique de la population ovine, l'Anses recommande de mener dès à présent une réflexion visant à définir les objectifs précis à moyen et long terme du programme de lutte génétique contre les EST ovines, préalablement au choix d'une stratégie de sélection.

Le directeur général

Marc MORTUREUX

MOTS-CLES

Mots clés : sélection génétique, EST, ovins, tremblante

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Andreoletti, O., C. Lacroux, et al. (2002). "PrP(Sc) accumulation in placentas of ewes exposed to natural scrapie: influence of foetal PrP genotype and effect on ewe-to-lamb transmission." *J Gen Virol* **83**(Pt 10): 2607-16.
- Arsac, J. N., O. Andreoletti, et al. (2007). "Similar biochemical signatures and prion protein genotypes in atypical scrapie and Nor98 cases, France and Norway." *Emerg Infect Dis* **13**(1): 58-65.
- Clouscard, C., P. Beaudry, et al. (1995). "Different allelic effects of the codons 136 and 171 of the prion protein gene in sheep with natural scrapie." *J Gen Virol* **76** (Pt 8): 2097-101.
- EFSA (2006). Opinion of the Scientific Panel on biological hazards (BIOHAZ) on the Breeding programme for TSE resistance in sheep. *The EFSA Journal*, European Food Safety Authority. **382**: 1 - 46.
- Goldmann, W., F. Houston, et al. (2006). "Ovine prion protein variant A(136)R(154)L(168)Q(171) increases resistance to experimental challenge with bovine spongiform encephalopathy agent." *J Gen Virol* **87**(Pt 12): 3741-5.
- Hunter, N. (1997). "PrP genetics in sheep and the applications for scrapie and BSE." *Trends Microbiol* **5**(8): 331-4.
- Hunter, N., J. D. Foster, et al. (1996). "Natural scrapie in a closed flock of Cheviot sheep occurs only in specific PrP genotypes." *Arch Virol* **141**(5): 809-24.
- Hunter, N., W. Goldmann, et al. (1997). "Natural scrapie and PrP genotype: case-control studies in British sheep." *Vet Rec* **141**(6): 137-40.
- Lacroux, C., F. Corbière, et al. (2007). "Dynamics and genetics of PrPSc placental accumulation in sheep." *J Gen Virol* **88**(Pt 3): 1056-61.
- Man, W. Y., N. Nicholls, et al. (2009). "Evaluating different PrP genotype selection strategies for expected severity of scrapie outbreaks and genetic progress in performance in commercial sheep." *Prev Vet Med* **91**(2-4): 161-71.
- Moreno, C. R., K. Moazami-Goudarzi, et al. (2007). "Which PrP haplotypes in a French sheep population are the most susceptible to atypical scrapie?" *Arch Virol* **152**(6): 1229-32.
- Moum, T., I. Olsaker, et al. (2005). "Polymorphisms at codons 141 and 154 in the ovine prion protein gene are associated with scrapie Nor98 cases." *J Gen Virol* **86**(Pt 1): 231-5.
- Saunders, G. C., I. Lantier, et al. (2009). "Protective effect of the T112 PrP variant in sheep challenged with bovine spongiform encephalopathy." *J Gen Virol* **90**(Pt 10): 2569-74.
- Vaccari, G., G. Scavia, et al. (2009). "Protective effect of the AT137RQ and ARQK176 PrP allele against classical scrapie in Sarda breed sheep." *Vet Res* **40**(3): 19.
- van Keulen, L. J., B. E. Schreuder, et al. (1996). "Immunohistochemical detection of prion protein in lymphoid tissues of sheep with natural scrapie." *J Clin Microbiol* **34**(5): 1228-31.
- Andreoletti, O., C. Lacroux, et al. (2002). "PrP(Sc) accumulation in placentas of ewes exposed to natural scrapie: influence of foetal PrP genotype and effect on ewe-to-lamb transmission." *J Gen Virol* **83**(Pt 10): 2607-16.
- Arsac, J. N., O. Andreoletti, et al. (2007). "Similar biochemical signatures and prion protein genotypes in atypical scrapie and Nor98 cases, France and Norway." *Emerg Infect Dis* **13**(1): 58-65.
- Clouscard, C., P. Beaudry, et al. (1995). "Different allelic effects of the codons 136 and 171 of the prion protein gene in sheep with natural scrapie." *J Gen Virol* **76** (Pt 8): 2097-101.
- Corbière F, Fidelle F, Barillet F (2008): Classical scrapie: lessons from a 10 years follow-up in 25 naturally infected Manech Red Faced commercial flocks using homozygote resistant rams for eradication, Communication 15e journées 3R, Paris 4-5 décembre 2008
- Goldmann, W., F. Houston, et al. (2006). "Ovine prion protein variant A(136)R(154)L(168)Q(171) increases resistance to experimental challenge with bovine spongiform encephalopathy agent." *J Gen Virol* **87**(Pt 12): 3741-5.
- Hagenaars TJ, Melchior MB, Bossers A, Davidse A, Engel B, van Zijderveld FG. (2010) Scrapie prevalence in sheep of susceptible genotype is declining in a population subject to breeding for resistance. *BMC Vet Res*. 14;6:25.
- Hunter, N. (1997). "PrP genetics in sheep and the applications for scrapie and BSE." *Trends Microbiol* **5**(8): 331-4.
- Hunter, N., J. D. Foster, et al. (1996). "Natural scrapie in a closed flock of Cheviot sheep occurs only in specific PrP genotypes." *Arch Virol* **141**(5): 809-24.
- Hunter, N., W. Goldmann, et al. (1997). "Natural scrapie and PrP genotype: case-control studies in British sheep." *Vet Rec* **141**(6): 137-40.

- Lacroux, C., F. Corbiere, et al. (2007). "Dynamics and genetics of PrPSc placental accumulation in sheep." *J Gen Virol* **88**(Pt 3): 1056-61.
- Man, W. Y., N. Nicholls, et al. (2009). "Evaluating different PrP genotype selection strategies for expected severity of scrapie outbreaks and genetic progress in performance in commercial sheep." *Prev Vet Med* **91**(2-4): 161-71.
- Moreno, C. R., K. Moazami-Gouzarzi, et al. (2007). "Which PrP haplotypes in a French sheep population are the most susceptible to atypical scrapie?" *Arch Virol* **152**(6): 1229-32.
- Moum, T., I. Olsaker, et al. (2005). "Polymorphisms at codons 141 and 154 in the ovine prion protein gene are associated with scrapie Nor98 cases." *J Gen Virol* **86**(Pt 1): 231-5.
- Saunders, G. C., I. Lantier, et al. (2009). "Protective effect of the T112 PrP variant in sheep challenged with bovine spongiform encephalopathy." *J Gen Virol* **90**(Pt 10): 2569-74.
- Vaccari, G., G. Scavia, et al. (2009). "Protective effect of the AT137RQ and ARQK176 PrP allele against classical scrapie in Sarda breed sheep." *Vet Res* **40**(3): 19.
- van Keulen, L. J., B. E. Schreuder, et al. (1996). "Immunohistochemical detection of prion protein in lymphoid tissues of sheep with natural scrapie." *J Clin Microbiol* **34**(5): 1228-31.
- Hagenaars TJ, Melchior MB, Bossers A, Davidse A, Engel B, van Zijderveld FG. (2010) Scrapie prevalence in sheep of susceptible genotype is declining in a population subject to breeding for resistance. *BMC Vet Res.* 14;6:25.

ANNEXE

Description et bilan du plan national d'amélioration génétique de la résistance à la tremblante (PNAGRT).

A- Description du PNAGRT

a. Historique - Organisation

Sous l'égide du Ministère de l'agriculture (DGPAAT, DGAL), les représentants de la filière ovine (FNO, Coop de France, Races de France, FNGDS, ANIO, INTERBEV, Interprofessions laitière,...), l'Institut de l'Élevage et l'INRA ont organisé un plan d'amélioration génétique de la résistance à la tremblante basé sur les connaissances relatives aux effets du gène *PRNP*. Les modalités techniques en ont été validées lors de la réunion de la Commission nationale d'amélioration génétique (CNAG) du 21 novembre 2001.

Le plan repose sur deux éléments clés : (1) le tri des animaux est fait sur la base de leur génotype au locus PrP identifié dans un laboratoire de référence (LABOGENA) ou un des laboratoires agréés par la DGAI ; (2) il s'appuie sur les organismes de sélection (anciennement Unités de promotion des races) qui, pour chaque race, regroupent les éleveurs sélectionneurs adhérents des systèmes collectifs de contrôle des parentés et des performances. L'ensemble des données (PrP, Pedigree, performances) de ces « bases de sélection » est géré au sein de la base de données nationale du Centre de Traitement de l'Information Génétique.

Le plan a été au départ programmé pour la période 2002-2006. Il a été prolongé de 2007 à 2009. Il a été reconduit pour trois ans en octobre 2009.

L'organisation de l'amélioration génétique en France est régie par la Loi d'orientation agricole de 2006, qui a succédé à la loi sur l'Élevage de 1966.

Les plans de sélection soutenus par le ministère en charge de l'agriculture (qui met en débat ses réglementations et son soutien au sein de la CNAG (instance consultative paritaire) sont réalisés par des organismes et entreprises de sélection (OS, ES) qui rassemblent de manière coopérative des éleveurs sélectionneurs. Les OS ont en charge des missions réglementées telles que la définition des objectifs de sélection et des caractéristiques raciales, ainsi que la tenue des livres généalogiques, ou l'orientation de l'organisation du plan de sélection. Il existe donc autant de plans de sélection que de races.

La sélection fait appel à plusieurs « outils ».

- L'insémination artificielle qui est opérée essentiellement par les centres de collecte et les centres de mise en place (9 en ovins), est réglementée et concerne uniquement des reproducteurs agréés.
- Les laboratoires qui réalisent les contrôles de filiations et certains génotypages, tels que celui du gène *PRNP*.
- L'identification du cheptel, obligatoire pour tous les ovins caprins du territoire, est régie par des textes réglementaires européen et français. La maîtrise d'œuvre est confiée aux EDE.
- La certification des parentés et le contrôle des performances en ferme, réalisés par 7 organismes agréés avec des exclusivités géographiques temporaires. Ils portent sur 300 000 brebis laitières (parmi 1.6 millions) et 300 000 brebis allaitantes (parmi 4.3 millions). Plusieurs protocoles sont proposés (production laitière complète ou simplifiée, reproduction, élevage, croissance).
- Les centres d'élevage de jeunes mâles qui permettent la gestion collective des béliers des élevages sélectionneurs.
- Les stations de contrôles de performances individuelles ou sur descendances, qui assurent une homogénéisation des conditions de mesures, complètent le dispositif en ferme pour les aptitudes bouchères.
- Les Systèmes nationaux d'information génétique (SNIG) collectent, conservent, traitent, mettent à jour et distribuent les informations nécessaires aux acteurs de la sélection (notamment OS, CIA, laboratoires d'analyses). Ils reposent sur l'articulation entre les organismes de contrôles de performance, les Centres régionaux de traitement de l'information et le Centre national de traitement de l'information (CTG implanté à l'INRA) qui travaille en étroite collaboration avec l'Institut de l'Élevage.

Les principes de base des schémas de sélection sont :

- l'identification, parmi la jeune génération, de futurs reproducteurs conformes aux standards raciaux, fertiles et issus des meilleurs reproducteurs de la race ;
- leur mise à l'épreuve en ferme ou dans des stations de contrôle sur des caractères d'intérêt zootechnique décidés par l'organisme de sélection ;
- l'évaluation de leur valeur génétique, sous le contrôle de l'INRA, à l'aide de modèles statistiques scientifiquement reconnus par la communauté scientifique internationale et d'applications logicielles exécutées au CTIG ;
- la classification des candidats sur la base de ces informations objectives ;
- la mise à la reproduction, avec des plans d'accouplements spécifiés, des candidats retenus.

b. Objectifs

Le PNAGRT a été mis en place avec quatre objectifs : (i) éliminer l'allèle de sensibilité (VRQ), (ii) fournir des animaux ou de la semence d'animaux résistants aux élevages atteints par la tremblante, (iii) augmenter la fréquence de l'allèle de résistance (ARR) tout en maintenant variabilité et niveau génétique, (iv) fournir des béliers ou de la semence de béliers résistants (ARR/ARR) aux élevages de production.

c. Modalités de réalisation.

Les modalités de réalisation, en particulier le nombre de génotypages à réaliser chaque année et le choix des animaux à cibler pour ces génotypages, ont été modulées entre races, pour tenir compte notamment des fréquences alléliques en un instant donné.

Tous les mâles adultes des bases de sélection ont été génotypés dès le début du programme, pour avoir un état des lieux et éliminer les porteurs de VRQ. Puis, chaque année, les jeunes béliers ont été génotypés avant leur entrée dans le centre de rassemblement racial (centre d'élevage ou station de contrôle individuelle selon les cas) afin de retenir les homozygotes ARR. Des quotas supplémentaires de génotypages de béliers d'élevage ont été organisés dans certaines races pour satisfaire la demande des élevages de production.

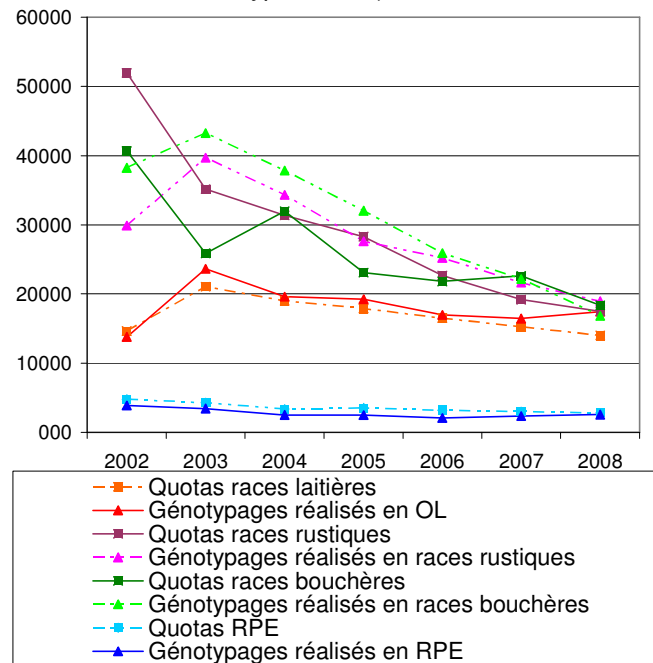
L'utilisation des quotas de génotypage pour les femelles a plutôt été ciblée sur les agnelles de renouvellement pour les races allaitantes, et sur les brebis élites pour les races laitières.

Au total plus de 670 000 génotypages ont été réalisés.

L'évolution des génotypages par grand groupe racial est donnée dans la figure 1.

Figure 1.

Nombre de génotypages annuels prévus par le comité de pilotage du PNAGRT (quotas) et réalisés par les Entreprises de sélection selon le type racial (RPE : Race à Petit Effectif)



B- Bilan du PNGART

Les données qui suivent sont le résultat d'une compilation récente réalisée par les ingénieurs en charge du PNAGRT à partir des bases de données centralisée au CTIG. Cette compilation fait l'objet d'un rapport très complet publié en 2009 (Sidani, 2009), dans lequel les informations sont détaillées pour chaque race.

a. Dans les élevages de sélection

i. Elimination de l'allèle VRQ

Les figures 2a, 2b, 2c donnent l'évolution de la fréquence de l'allèle VRQ chez les agneaux des différentes races. Dans tous les cas cette évolution est rapide, d'autant plus que la fréquence initiale est élevée. On notera que, s'il ne représente plus que quelques pourcents des effectifs totaux, l'allèle VRQ n'est jamais totalement éliminé.

Figure 2a

Evolution de la fréquence de l'allèle VRQ chez les races bouchères

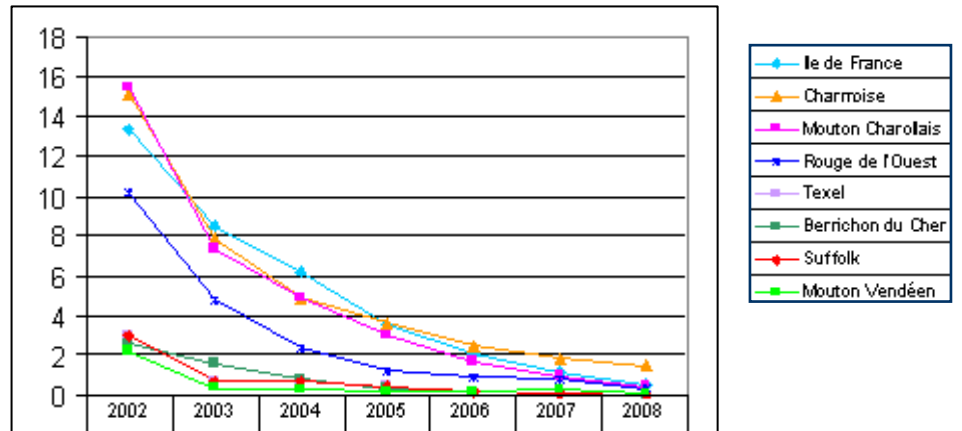


Figure 2b

Evolution de la fréquence de l'allèle VRQ chez les races rustiques

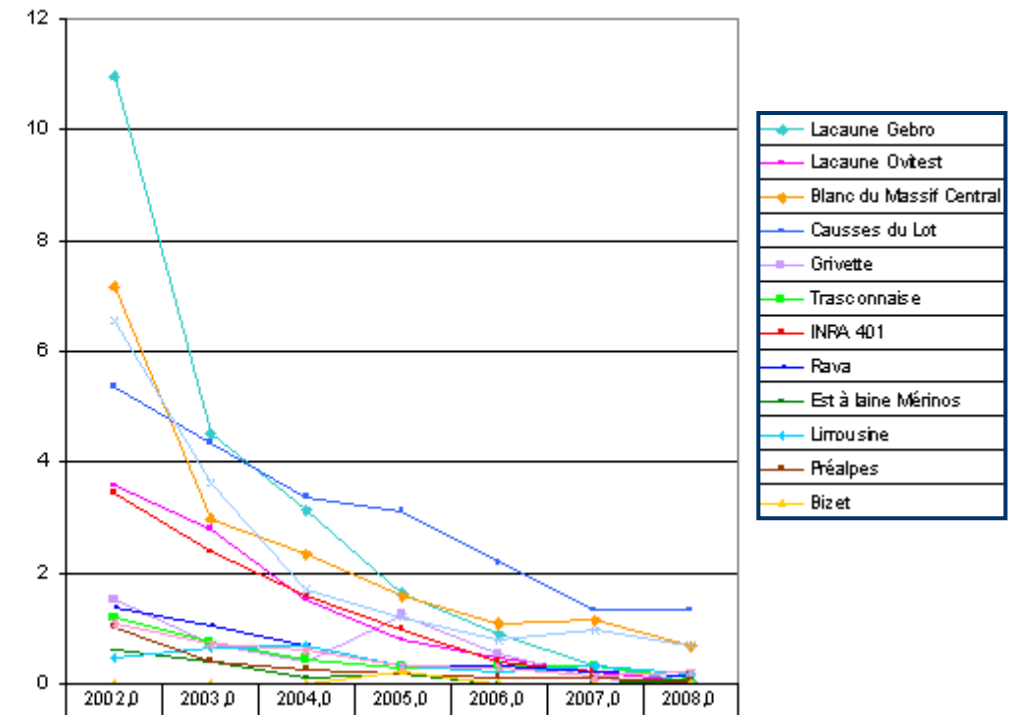
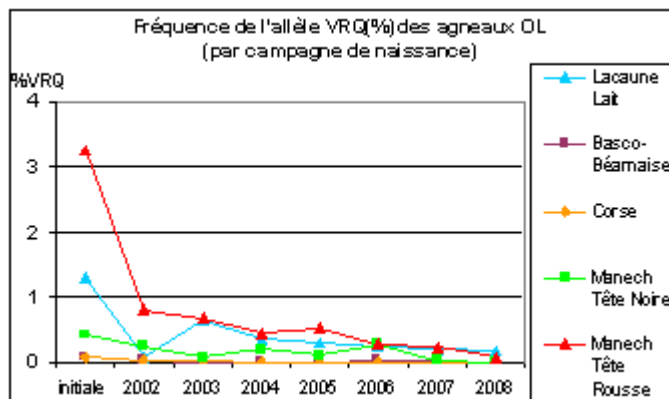


Figure 2c
Evolution de la fréquence de l'allèle VRQ chez les races laitières



ii. Sélection de l'allèle ARR

Les figures 3a, 3b, 3c donnent l'évolution de la fréquence de l'allèle ARR chez les mâles actifs des différentes races. Dans tous les cas cette fréquence augmente. Si elle est encore faible chez l'Est à laine Mérinos, cette fréquence dépasse presque toujours 50 %. Les races bouchères, dont les béliers sont largement utilisés en croisement industriel pour produire des agneaux de boucherie, présentent des fréquences alléliques très élevées, presque toujours supérieures à 70 %.

Figure 3a
Evolution de la fréquence de l'allèle ARR chez les races bouchères

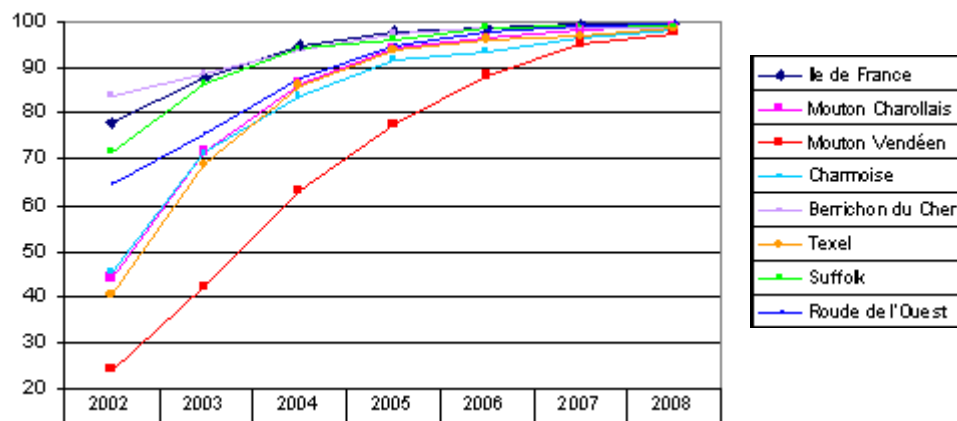


Figure 3b

Evolution de la fréquence de l'allèle ARR chez les races allaitantes

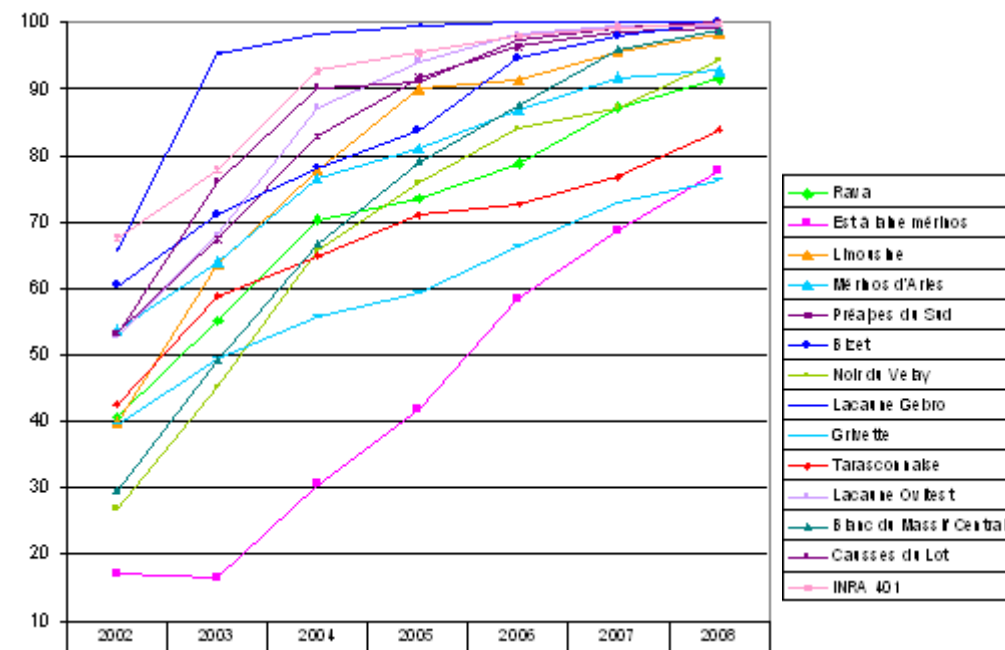
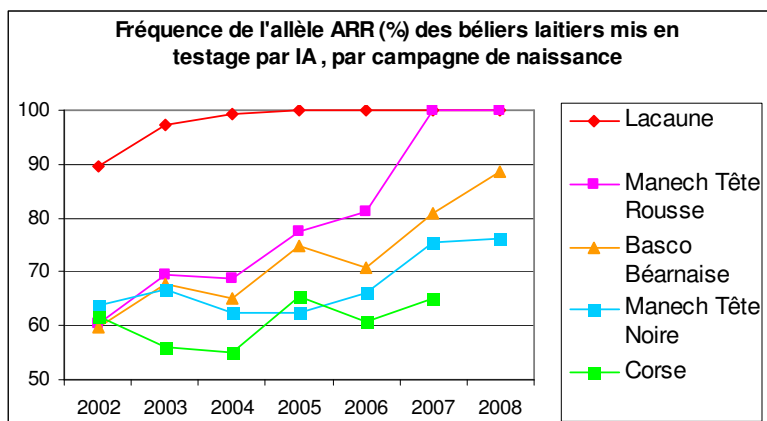


Figure 3c

Evolution de la fréquence de l'allèle ARR chez les races laitières



b. Dans les élevages commerciaux

Les génotypes des béliers diffusés depuis les bases de sélection vers les élevages de production en races allaitantes se sont considérablement améliorés entre 2002 (30 % de béliers ARR/ARR) et 2008 (90 % ARR/ARR) (figure 4). Cependant, le nombre total de béliers diffusés a diminué de façon importante en 2007 et 2008 (tableau 1), pour atteindre une valeur nettement en deçà de la capacité de diffusion des élevages de sélection. On notera toutefois que ces effectifs sont une sous estimation du nombre réel de béliers vendus par les éleveurs sélectionneurs aux producteurs, et qu'un marché d'agnelles permet de compléter le dispositif dans des proportions sans doute non négligeables

Figure 4
Génotype des béliers vendus par les élevages de sélection aux élevages de production

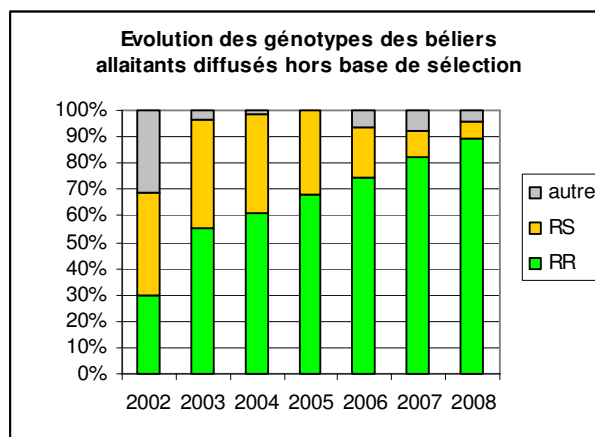


Tableau 1
Nombre de béliers diffusés par les bases de sélection en ovins allaitants

	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
Nombre de mâles diffusés	12236	12174	11900	12045	11400	9720	7888