

N/Réf. : 2001-SA-207

AVIS

de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments concernant les mesures de police sanitaire relatives à la tremblante des ovins et caprins

-*-*-*-*-*-

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments a été saisie le 14 août 2001 par la Direction générale de l'alimentation d'une demande d'avis concernant un projet d'arrêté modifiant l'arrêté du 28 mars 1997 fixant les mesures de police sanitaire relatives à la tremblante ovine et caprine et l'arrêté du 29 mars 1997 fixant les mesures financières relatives à la police sanitaire de la tremblante ovine et caprine.

Considérant qu'aux termes de l'arrêté en date du 28 mars 1997 les mesures de police sanitaire reposent sur les principes suivants :

- Mise sous surveillance de l'exploitation avec enquête épidémiologique dès lors qu'un cas de tremblante est détecté ;
- Confirmation du diagnostic par examen histopathologique qui, en cas de positivité, entraîne l'euthanasie de l'animal atteint et des animaux suspects ;
- Marquage et isolement des animaux considérés comme à risque suite à l'enquête épidémiologique ; abattage dans un établissement désigné par les services vétérinaires ; toutefois pas de marquage des animaux en cas de tremblante sporadique ;
- Mesures d'abattage dont l'ampleur varie selon le taux d'atteinte dans le troupeau (tremblante sporadique ou enzootique).

Considérant que, par rapport à la réglementation actuelle, le projet de texte apporterait les modifications ou compléments suivants :

- Disparition de la distinction entre tremblante sporadique et enzootique : les mesures de police sanitaire se déclenchaient au premier cas détecté ;
- Révision des critères de suspicion clinique de la tremblante avec abaissement de l'âge de la suspicion à 6 mois ;
- Extension des méthodes diagnostiques de la tremblante (examen histopathologique, immunohistochimie, Western blot, techniques de diagnostic rapide dès lors qu'elles seront validées) ;
- Introduction d'une sélection génétique au sein du cheptel ovin ayant pour objectif la mise en place d'une politique d'abattage des animaux de génétique sensible et le repeuplement d'un troupeau par des reproducteurs mâles homozygotes ARR/ARR ;

23, avenue du
Général de Gaulle
BP 19, 94701
Maisons-Alfort cedex
Tel 01 49 77 13 00
Fax 01 49 77 90 05
www.afssa.fr

REPUBLIQUE
FRANÇAISE

- Dérogation possible à cette sélection génétique pour les femelles reproductrices appartenant à des races ovines présentant une sensibilité particulière à la tremblante en vue de la mise en œuvre d'un programme d'amélioration génétique ; dans cette éventualité, la mise en pâture collective serait alors interdite.

Pour donner un avis, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments a consulté le Comité d'experts spécialisé sur les ESST sur le projet et sa cohérence avec les données scientifiques et l'analyse des risques au regard notamment des points suivants :

- des critères cliniques de suspicion de la tremblante ovine et caprine ;
- des méthodes pouvant être agréées en vue du diagnostic de la tremblante ;
- des bases scientifiques d'une sélection génétique au sein du cheptel ovin français ;
- du nombre de générations nécessaires pour rendre le cheptel ovin français génétiquement résistant à la tremblante ;
- de la possibilité, en l'état actuel des connaissances scientifiques, d'envisager un tel programme pour les caprins ;
- des mesures de sécurisation des abattoirs chargés d'euthanasier les animaux génétiquement sensibles, au regard notamment des conséquences pour la santé humaine ;
- du risque éventuel que des ovins génétiquement résistants soient porteurs asymptomatiques d'une souche de tremblante ;
- du risque éventuel de propagation de la souche d'ESB au sein d'ovins génétiquement résistants à la tremblante, notamment dans le cas des exploitations mixtes ovins/bovins ;
- de l'existence de races ovines présentant une sensibilité particulière à la tremblante qui pourraient bénéficier d'une dérogation à l'abattage en vue d'un programme d'amélioration génétique.

Considérant que le Comité d'experts spécialisé sur les ESST a adopté les conclusions suivantes en date du 1^{er} novembre 2001¹ :

« Considérant que le Comité d'Experts Spécialisé sur les ESST a été consulté, dans le cadre d'une saisine sur une demande d'avis, sur un projet d'arrêté du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche modifiant l'arrêté du 28 mars 1997 fixant les mesures de police sanitaire relatives à la tremblante ovine et caprine,

Considérant que ce projet d'arrêté conduit dans son principe à remplacer, pour l'espèce ovine, la procédure d'abattage d'animaux dans les troupeaux atteints de tremblante fondée sur leur appartenance à des cohortes d'animaux définies soit par leur période de naissance, soit par leur provenance, par une procédure d'abattage des animaux de génétique sensible, et la reconstitution d'un troupeau résistant par l'emploi de reproducteurs mâles homozygotes pour un allèle de résistance du gène de la PrP,

¹ Avis du Comité d'experts spécialisé sur les ESST présidé par le Professeur Marc ELOIT sur le projet d'arrêté du ministère de l'agriculture et de la pêche modifiant l'arrêté du 28 mars 1997 fixant des mesures de police sanitaire relatives à la tremblante ovine et caprine.

Considérant que ce dispositif doit être analysé pour ses conséquences à la fois en matière de santé animale, en fonction de la vitesse de reconstitution d'un troupeau résistant et de l'exportation vers d'autres exploitations d'animaux issus du troupeau concerné, et de santé publique, en fonction du devenir des animaux abattus et de leurs produits,

Considérant que, compte tenu de l'existence de cas cliniques de tremblante chez des ovins de huit à dix mois, il est justifié que les critères de suspicion clinique définissant les troupeaux cibles des mesures de police sanitaire s'appliquent aux ovins et caprins à partir de l'âge de 6 mois,

Considérant que les techniques d'histopathologie, d'immunohistochimie et de Western Blot représentent des techniques satisfaisantes de diagnostic chez des animaux suspects cliniquement, et que à court terme, des techniques de diagnostic rapide pourraient les compléter sous réserve d'une validation adéquate, le choix des techniques de diagnostic décrit au projet d'arrêté apparaît justifié,

Considérant que les combinaisons d'allèles qui définissent dans le projet d'arrêté la sensibilité génétique des ovins sont conformes aux connaissances scientifiques actuelles,

En effet, les bases scientifiques d'une sélection génétique chez les ovins sont fondées sur l'existence une variabilité génétique de la sensibilité aux ESST (de même que chez la souris et chez l'homme). Cette variabilité, est bien documentée. Des lignées ovines sélectionnées sur la durée d'incubation de la tremblante ont été mises en place en 1961 au Royaume Uni. L'étude de ces lignées a permis de montrer, dès 1968 (Dickinson et al. 1968), l'existence d'un déterminisme génétique mendélien (gène *Sip*, pour *Scrapie Incubation Period* avec deux allèles *sA* (short) et *pA* (prolonged)), fondant l'essentiel de notre connaissance de la génétique de la sensibilité des ovins à cette maladie. La génétique moléculaire de la tremblante a débuté en 1989 avec la mise en évidence de liaison génétique de ce gène *Sip* avec des marqueurs RFLP du gène de la *PrP* (Hunter et al. 1989). Elle est en grande partie expliquée par le polymorphisme du gène *PrP* qui code pour une glycoprotéine membranaire ubiquiste dite *PrP*. Quatorze allèles du gène *PrP* sont connus chez le mouton, correspondant à des variations en différents codons de ce gène. Parmi les différents allèles du gène, celui qui code pour les acides aminés Alanine (*A*) en position 136, Arginine (*R*) en positions 154 et 171 confère une résistance à la tremblante : cet allèle est codifié *ARR*. Sur la base de milliers d'observations réalisées dans tous les pays confrontés à la tremblante, les ovins dont les deux copies du gène sont de type *ARR* (moutons homozygotes *ARR/ARR*) sont entièrement résistants à la tremblante, quelle que soit la souche de l'agent infectieux, alors que les hétérozygotes *ARR* sont très rarement atteints (Hunter 2000). A titre d'exemple, une étude épidémiologique menée à l'échelle européenne n'a permis de détecter aucun *ARR/ARR* parmi 1587 cas de tremblante confirmées par histopathologie, cependant que ce génotype représentait 15,5 % de la population de 9141 témoins (rapport annuel n°3 du projet CT973305 de la commission Européenne (DGVI)). Le seul cas de mouton *ARR/ARR* tremblant rapporté à ce jour est celui d'un *Suffolk* japonais (Ikeda et al. 1995). A l'opposé, l'allèle qui code pour Valine en 136, Arginine en 154 et Glutamine en 171 (allèle codifié *VRQ*) confère une grande sensibilité à la tremblante : dans l'étude européenne, les animaux *VRQ/VRQ* représentaient 13,7 % des tremblants et 0,6% des témoins.

Par ailleurs, les résultats des expériences d'inoculation des ovins avec un isolat d'ESB ne suggèrent pas, pour ce qui concerne l'influence de l'allèle *ARR*, un spectre de sensibilité

génétique différent pour la souche ESB par rapport aux isolats de tremblante. Aucun des animaux ARR/ARR inoculés par des isolats d'ESB n'ont déclaré une ESST ni accumulé de PrPres en quantités détectables (Goldmann et al. 1994) (Jeffrey et al. 2001). Cependant, le faible nombre d'animaux ARR/ARR impliqués dans ces expérimentations laisse demeurer une marge d'incertitude sur la notion de résistance « absolue » de ce génotype vis-à-vis de l'ESB.

Considérant que, la circulation de souches d'ESST au sein d'effectifs d'ovins dont au moins un allèle de la PrP est ARR est de probabilité beaucoup plus faible qu'au sein d'effectifs de génotype sensible, cette base de sélection génétique ne paraît donc pas représenter un risque majoré de contamination occulte de l'homme, même dans le dispositif actuel reposant sur l'identification clinique des cas.

En effet, dans l'état actuel des connaissances, le portage asymptomatique d'une souche d'ESST, par des ovins génétiquement résistants, n'a pas été démontré. Lors d'exposition naturelle à la tremblante, la recherche de PrPres est négative sur les ovins ARR/ARR de tous âges, et en particulier sur des ovins plus âgés que ce qui est observé habituellement en troupeaux commerciaux. L'inoculation expérimentale à des ovins ARR/ARR de souches d'ESB ou de tremblante, par voie orale ou intra cérébrale n'a pas permis d'obtenir de symptômes (Goldmann et al. 1994) (Jeffrey et al. 2001). De plus, les résultats publiés sur l'inoculation orale d'ESB à des ovins ARR/ARR rapportent l'absence de PrPres tissulaire jusqu'à 24 mois post inoculation (Jeffrey et al. 2001). Des recherches sont en cours, sur des ovins ARR/ARR, pour confirmer ces premiers résultats, et les étendre en évaluant la présence d'infectiosité tissulaire, en l'absence de PrPres, lors d'exposition maximisée, par voie orale et intracérébrale. En ce qui concerne les animaux hétérozygotes porteurs d'une copie de l'allèle ARR, les observations accumulées à ce jour, en tremblante naturelle (Andreoletti et al. 2000; van Keulen et al. 1999) comme lors d'ESB expérimentale (Jeffrey et al. 2001), montrent que les animaux ARR/VRQ et ARR/ARQ ne sont pas porteurs de PrPres avant au moins l'âge d'un an dans l'ensemble des organes étudiés : système nerveux central, formations lymphoïdes et système nerveux autonome digestif. Lors de l'épreuve expérimentale par voie orale par l'agent de l'ESB de six moutons ARR/VRQ, ARR/ARQ et ARR/AHQ, seul un mouton (ARR/VRQ) a développé une ESST après une très longue incubation (1945 jours), la recherche de PrPres dans l'encéphale restant négative par Western-Blot, et douteuse par immunohistochimie (Foster et al. 2001).

Considérant que les risques pour la santé publique liés à la consommation d'animaux de génotype sensible et très sensible issus des troupeaux sous police sanitaire sont fonction de la souche d'ESST en cause, de la localisation tissulaire de l'infectiosité, du génotype des animaux, de leur degré d'exposition au risque,

Le paramètre majeur est la souche d'ESST : la présence en conditions naturelles d'une souche d'ESB chez les ovins et caprins n'a à ce jour jamais été démontrée. Néanmoins, les petits ruminants ont pu être exposés jusqu'à un passé récent, à des degrés divers, à des sources de contamination alimentaire. Le faible nombre d'isolats testés, au Royaume Uni et en France, ne permet pas d'exclure avec une fiabilité satisfaisante cette hypothèse. Dans ce contexte de risque hypothétique, le Comité estime justifié, à mesure que des avancées scientifiques ou technologiques le permettent, de définir des conditions limitant l'exposition des consommateurs aux sources d'ESST ovines ou caprines. Cette approche est également cohérente avec la logique des recommandations précédentes du Comité Interministériel appliquées aux Matériels à Risque Spécifique (MRS) des petits ruminants.

Des dépôts pathologiques de PrP détectés par immunohistochimie, devant être considérés comme des marqueurs probables d'une infectiosité, sont détectés chez des animaux infectés par l'agent de la tremblante très précocement, (dès l'âge de 2 mois chez des ovins VRQ/VRQ) (Andreoletti et al. 2000); en phase préclinique, chez les ovins de génotype sensibles, la PrPres est détectée dans l'ensemble des formations lymphoïdes (à l'exception du thymus) et dans les plexus nerveux myéliniques, puis dans la moelle épinière, l'encéphale et l'œil. La PrPres a également été détectée dans le sang (Schmerr et al. 1999) ; toutefois en phase préclinique, chez les ovins hétérozygotes ARR/VRQ ou ARR/ARQ, la PrPres ne semble pas détectable dans les formations lymphoïdes ou le système nerveux autonome digestif,

Parmi les ovins de génotype sensibles ou très sensibles, existent d'importantes différences d'infectabilité ; ainsi, à conditions d'exposition égales, la fréquence d'infection de brebis Romanov homozygotes VRQ/VRQ est environ 10 à 100 fois supérieure à celle des hétérozygotes ARR/VRQ et 2 fois supérieur aux ARQ/ARQ (Elsen et al. 1999) ; au sein d'un troupeau l'exposition semble hétérogène en particulier en fonction des cohortes de naissance,

Considérant que, dans un futur proche, l'existence de tests rapides applicables aux petits ruminants pourra probablement compléter les stratégies possibles pour limiter le risque d'exposition humaine,

Néanmoins, dans la mesure où la cinétique d'accumulation de l'infectiosité dans les tissus nerveux est tardive, un test négatif sur un prélèvement de système nerveux central ne permettrait pas de conclure à une absence d'infectiosité dans les tissus périphériques. En conséquence, l'utilisation de tests rapides de sensibilité validée et satisfaisante pour une utilisation à partir du système nerveux central mais aussi de tissus périphériques comme, à titre d'exemple, la rate, serait seule de nature à limiter le risque d'exposition du consommateur,

Considérant qu'un programme de sélection génétique n'est pas envisageable dans l'état actuel des connaissances chez les caprins, compte tenu de l'absence d'un rôle majeur du polymorphisme du gène PrP dans la réceptivité/sensibilité à la tremblante »

Sur ces fondements, l'Agence adoptant les conclusions du Comité d'experts spécialisés²:

1) émet un avis favorable, dans la situation actuelle où la présence de l'ESB dans les troupeaux de petits ruminants reste hypothétique, au principe d'une police sanitaire dans les troupeaux ovins atteints par la tremblante fondée sur une élimination des animaux de génotype PrP sensible et très sensible, correspondant aux allèles définis dans le projet d'arrêté, suivi d'une reconstitution à partir d'animaux de génotype résistante, et dans les troupeaux caprins atteints sur l'élimination de la totalité du cheptel. Cet avis favorable vaut pour tous les articles du projet non couverts par les commentaires suivants.

2) émet un avis défavorable sur :

- i) l'introduction dans la chaîne alimentaire des ovins de tout âge de génotype sensible et très sensible, au sens du projet d'arrêté, provenant de troupeaux

² Le Comité d'experts spécialisé ayant, lors de l'examen des questions soulevées par le projet d'arrêté, adopté des conclusions détaillées sur l'ensemble des dispositions qu'il contient, celles-ci sont intégralement reprises avec la formulation que le comité a retenue.

où au moins un cas³ d'encéphalopathie spongiforme a été diagnostiqué (Art 8 I 5). Cet avis s'appuie sur l'incertitude actuelle sur l'existence d'une souche d'ESB chez les petits ruminants, et sur le sur-risque statistique associé à cette sous population d'animaux de génotype PrP sensible au sein de populations exposées au risque infectieux. En raison de la distribution de l'infectiosité ou de son marqueur PrPres chez les ovins atteints de tremblante naturelle ou expérimentale, ou d'ESB expérimentale, le retrait des MRS telles que définis actuellement par la réglementation, même complétés par l'ensemble des viscères thoraciques et abdominaux, n'apparaît plus comme optimale pour limiter l'exposition du consommateur dès lors qu'une sous-population particulière à risque aggravé devient désormais identifiable, et permet d'appliquer de manière ciblée des mesures plus restrictives. Cette possibilité d'introduction dans la chaîne alimentaire de cette catégorie d'animaux pourra être réévaluée quand des tests rapides de sensibilité suffisante à partir de prélèvements de tissus périphériques auront été validés.

- ii) l'introduction dans la chaîne alimentaire des animaux de plus d'un an, d'espèce ovine et caprine, de ces troupeaux sous police sanitaire,
- iii) l'interdiction d'introduire des femelles de génotype résistant au sens du projet d'arrêté, dans un troupeau soumis aux opérations de police sanitaire (Art 8 I 8) : il n'existe en effet pas de justification scientifique pour cette interdiction. A l'inverse, une telle disposition est de nature à ralentir, voire empêcher, la reconstitution de troupeaux résistants.

3) indique qu'elle ne peut pas se prononcer sur le détail des mesures d'application, non définies dans le projet d'arrêté, mais dont elle souligne qu'elles conditionnent l'impact effectif des dispositions générales de l'arrêté pour la santé humaine et animale. En particulier,

- i) le devenir pour l'élevage des animaux de génotype considéré par défaut comme non sensible doit être défini. Dans ce contexte, il convient de rappeler que les animaux autres que ARR/ARR ne présentent pas de résistance absolue aux ESST,
- ii) le dispositif d'amélioration génétique prévu par l'arrêté ne concerne que les troupeaux soumis à police sanitaire. Son impact sur la prévalence des ESST ovines risque donc d'être limité, voire défavorable en fonction du devenir pour l'élevage des animaux issus des troupeaux atteints. Un contrôle strict du devenir des animaux issus de ces troupeaux, ainsi qu'une extension du programme d'amélioration génétique aux effectifs réputés non atteints, représenterait une meilleure garantie d'efficacité,
- iii) Les conditions de dérogation spécifiques pour des races génétiquement sensibles ne sont pour l'instant pas évaluables en l'absence de projet de circulaire d'application.

Dans ces domaines, un avis est conditionné par l'examen des dispositions particulières décrites dans les instructions prévues dans le projet d'arrêté.

4) préconise la modification de certains points spécifiques :

³ L'extension de cet avis défavorable à l'ensemble des troupeaux, y compris ceux dans lesquels un très faible nombre de cas ont été enregistrés, a été très largement majoritaire au sein du comité, mais non unanime, pour des raisons liées aux risques perçus de sous déclaration des cas en face de contraintes jugées lourdes pour l'éleveur.

Art 4. 1 a : La liste des symptômes devrait être reformulée comme suit « atteints de symptômes nerveux tels que troubles du comportement, de l'état de vigilance, de la locomotion, de l'attitude et de la posture, persistant plus de 15 jours, associés ou non à un prurit ou à des mouvements anormaux, ainsi que tout autre symptôme nerveux ou locomoteur qui ne peut être rapporté avec certitude à une maladie autre que la tremblante »

Art. 6. 3) test "non négatif" à remplacer par test positif

5) souligne que :

- i) les troupeaux soumis à police sanitaire sont actuellement identifiés sur la base des symptômes et de la déclaration des suspicions. Des risques de sous-déclaration existent donc, proportionnels aux contraintes qui s'exercent sur les élevages concernés. Le risque que certains troupeaux, en particulier atteints de forme sporadique, échappent aux mesures de police sanitaire doit être donc pris en compte, par des mesures d'accompagnement appropriées. Le Comité conduit actuellement une réflexion sur l'opportunité d'une stratégie de dépistage actif de ces élevages, qui ne conditionnerait pas leur identification à un système déclaratif.
- ii) L'absence d'une gestion au plan national des populations de petits ruminants à partir de l'identification individuelle des animaux peut se révéler un frein important à la mise en œuvre et au contrôle des dispositions du projet d'arrêté.⁴

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments précise enfin que les questions soulevées par l'examen de ce projet d'arrêté justifient que la stratégie de lutte contre les ESST chez les petits ruminants, l'évaluation et l'articulation des différentes mesures au regard de la maîtrise du risque, fassent l'objet d'un examen global. Ceci donnera lieu à un avis d'ensemble de sa part s'appuyant sur les travaux en cours du Comité d'experts spécialisé.

Fait à Maisons-Alfort, le 8 novembre 2001

Le Directeur général de l'Agence française
de sécurité sanitaire des aliments

Martin HIRSCH

⁴ Les références bibliographiques figurent en annexe.

ANNEXE

Références

- ANDREOLETTI,O., BERTHON,P., MARC,D., SARRADIN,P., GROSCLAUDE,J., VAN KEULEN,L., SCHELCHER,F., ELSEN,J.M. & LANTIER,F. (2000) Early accumulation of PrP(Sc) in gut-associated lymphoid and nervous tissues of susceptible sheep from a Romanov flock with natural scrapie. *J.Gen.Viro.*, **81**, pp. 3115-3126.
- DICKINSON,A.G., STAMP,J.T., RENWICK,C.C. & RENNIE,J.C. (1968) Some factors controlling the incidence of scrapie in Cheviot sheep injected with a Cheviot-passaged scrapie agent. *J.Comp Pathol.*, **78**, pp. 313-321.
- ELSEN,J.M., AMIGUES,Y., SCHELCHER,F., DUCROCQ,V., ANDREOLETTI,O., EYCHENNE,F., KHANG,J.V., POIVEY,J.P., LANTIER,F. & LAPLANCHE,J.L. (1999) Genetic susceptibility and transmission factors in scrapie: detailed analysis of an epidemic in a closed flock of Romanov. *Arch.Viro.*, **144**, pp. 431-445.
- FOSTER J.D., PARNHAM D., CHONG A., GOLDMANN W. & HUNTER N. (2001) Clinical signs, histopathology and genetics of experimental transmission of BSE and natural scrapie to sheep and goats *The Veterinary Record*, **148**, pp 165-171
- GOLDMANN,W., HUNTER,N., SMITH,G., FOSTER,J. & HOPE,J. (1994) PrP genotype and agent effects in scrapie: change in allelic interaction with different isolates of agent in sheep, a natural host of scrapie. *J.Gen.Viro.*, **75**, pp. 989-995.
- HUNTER,N. (2000) Transmissible Spongiform encephalopathies. In: *Breeding for Disease resistance in Farm animals* pp. 325-339. RFE Axford CABI Publishing, New York.
- HUNTER,N., FOSTER,J.D., DICKINSON,A.G. & HOPE,J. (1989) Linkage of the gene for the scrapie-associated fibril protein (PrP) to the Sip gene in Cheviot sheep. *Vet.Rec.*, **124**, pp. 364-366.
- IKEDA,T., HORIUCHI,M., ISHIGURO,N., MURAMATSU,Y., KAI-UWE,G.D. & SHINAGAWA,M. (1995) Amino acid polymorphisms of PrP with reference to onset of scrapie in Suffolk and Corriedale sheep in Japan. *J.Gen.Viro.*, **76** (Pt 10), pp. 2577-2581.
- JEFFREY,M., RYDER,S., MARTIN,S., HAWKINS,S.A., TERRY,L., BERTHELIN-BAKER,C. & BELLWORTHY,S.J. (2001) Oral inoculation of sheep with the agent of bovine spongiform encephalopathy (BSE). 1. Onset and distribution of disease-specific PrP accumulation in brain and viscera. *J.Comp Pathol.*, **124**, pp. 280-289.
- SCHMERR,M.J., JENNY,A.L., BULGIN,M.S., MILLER,J.M., HAMIR,A.N., CUTLIP,R.C. & GOODWIN,K.R. (1999) Use of capillary electrophoresis and fluorescent labeled peptides to detect the abnormal prion protein in the blood of animals that are infected with a transmissible spongiform encephalopathy. *J.Chromatogr.A*, **853**, pp. 207-214.
- VAN KEULEN,L.J., SCHREUDER,B.E., VROMANS,M.E., LANGEVELD,J.P. & SMITS,M.A. (1999) Scrapie-associated prion protein in the gastrointestinal tract of sheep with natural scrapie. *J.Comp Pathol.*, **121**, pp. 55-63.