

Prélèvement de l'isthme encéphalique pour la recherche d'encéphalopathie spongiforme transmissible chez le mouton

GABRIEL A.¹, JACOBS C.², SIMOENS P.².

1 Département de Morphologie et Pathologie, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Liège, Bd de Colonster, B43, 4000 Liège, Belgique
2 Vakgroep Morfologie, Faculteit Diergeneeskunde, Universiteit Gent, Salisburylaan 133, 9820 Merelbeke, België

Correspondance : Dr Annick Gabriel
Tél : 043664061 ; Fax : 043664076
annick.gabriel@ulg.ac.be

RESUME : Depuis le premier avril 2002, une directive de l'Union Européenne contraint la Belgique à tester les chèvres et les moutons, en plus des bovins, dans le cadre de la recherche d'encéphalopathie spongiforme transmissible. Comme chez les bovins, le diagnostic est réalisé à partir d'un prélèvement de l'isthme encéphalique au niveau de l'obex. Des différences morphologiques entre l'isthme encéphalique des moutons et chèvres et celui des bovins ont nécessité quelques ajustements de la méthode de prélèvement. Dans cette étude, les particularités techniques du prélèvement et certaines caractéristiques morphologiques du cerveau ovin sont décrites. Les différences majeures, par rapport aux bovins, sont d'une part les dimensions plus petites, et d'autre part le rétrécissement caudal très marqué de l'isthme encéphalique.

INTRODUCTION

Depuis le 1^{er} avril 2002, une décision récente de la Commission Européenne contraint la Belgique à tester des moutons et chèvres dans le cadre de la recherche d'encéphalopathie spongiforme transmissible (EST). Annuellement, en Belgique, 3750 petits ruminants adultes destinés à la consommation doivent être testés à l'abattoir, et 450 animaux adultes morts doivent être testés au clos d'équarrissage. On entend par adulte, un animal qui est âgé de 18 mois et plus ou qui possède plus de deux incisives permanentes qui ont percé la gencive (Commission Européenne, 2001 ; 2002).

Les encéphalopathies spongiformes transmissibles constituent un groupe de pathologies, incluant la tremblante du mouton, l'encéphalopathie spongiforme bovine, et, chez l'homme, la variante de la maladie de Creutzfeldt-Jacobs, caractérisées par la vacuolisation neuronale et l'accumulation d'une forme anormale d'une sialoglycoprotéine de la surface cellulaire appelée protéine prion anormale (PrP^{Sc}).

Chez les moutons et les chèvres, la tremblante est connue depuis très longtemps mais sa distribution dans le monde, sa prévalence et son incidence ne sont pas connues avec précision. Les agents responsables d'EST, plus particulièrement les agents de la tremblante, existent sous différents types biologiques. De plus, les agents de la tremblante qui ont été isolés chez les moutons, les chèvres et les animaux de laboratoire peuvent être différenciés biologiquement de l'agent de l'ESB chez les bovins. On n'a pas observé de relation épidémiologique entre l'occurrence de la tremblante chez le mouton et l'incidence de la variante de la maladie de Creutzfeldt-Jacobs chez l'homme. Ceci avait conduit à la conclusion que les types connus de l'agent de la tremblante n'étaient pas capables, dans des conditions naturelles, de rendre l'homme malade.

Par la suite, il a été bien établi que les moutons et les chèvres sont sensibles à une infection expérimentale par l'agent de l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB). Chez ces animaux, l'agent de l'ESB se comporte

comme l'agent de la tremblante en ce qui concerne le schéma de dispersion au niveau de divers organes (Foster *et al.*, 2001 ; Jeffrey *et al.*, 2001). La période d'incubation varie en fonction du génotype de la protéine prion de l'hôte, elle est particulièrement longue avec le génotype AHQ/ARR. Chez les bovins, les protéines prions anormales sont retrouvées majoritairement au niveau du système nerveux central et des ganglions nerveux. On en retrouve également au niveau de l'intestin, surtout de l'iléon distal (plaques de Peyer). Chez les moutons et les chèvres, des protéines prions anormales ont été mises en évidence au niveau du système nerveux central et périphérique, ainsi qu'au niveau du tissu lymphoïde. On retrouve de la vacuolisation surtout au niveau de l'isthme encéphalique, et plus particulièrement au niveau du noyau moteur dorsal du nerf vague. On a impliqué le système parasympathique et le nerf vague pour expliquer l'infection depuis l'intestin jusqu'au cerveau. En ce qui concerne le tissu lymphoïde, on retrouve surtout des PrP^{Sc} au niveau des tonsilles, des ganglions rétro pharyngiens, des ganglions iléo-

cæcal et méésentériques, et au niveau des plaques de Peyer dans l'intestin (Butler, 1998 ; Foster *et al.*, 2001).

D'après le Comité scientifique permanent (Commission européenne 1998 ; 2001), le risque que des petits ruminants aient pu être contaminés par des farines de viande et d'os est réel et l'on pourrait ainsi avoir introduit l'ESB au sein de la population de moutons et chèvres. Même si ce risque est minime, on ne peut pas exclure que l'ESB soit toujours présente chez ces animaux. La crainte majeure provient de la ressemblance entre les signes cliniques observés suite à une infection par l'agent de la tremblante et par l'agent de l'ESB chez le mouton. On ne peut pas non plus exclure le risque d'une transmission verticale (principalement maternelle) et horizontale chez les moutons et les chèvres par rapport à ce qui se passe chez les bovins. Ces moyens de transmission pourraient être suffisants pour propager l'ESB chez les petits ruminants malgré l'interdiction de leur donner des farines de viande et d'os. On ignore également si les caractéristiques de l'agent de l'ESB restent inchangées après plusieurs passages sur moutons. La stabilité de l'agent de l'ESB après plusieurs passages en série chez le mouton pourrait également varier en fonction du génotype du mouton. Par contre, on sait qu'après un passage dans une autre espèce, le phénotype de la maladie liée à l'infection par l'agent de l'ESB chez la souris ne change pas, ce qui peut suggérer que l'agent de l'ESB reste stable après transmission à la plupart des espèces animales.

Si l'ESB existe chez les petits ruminants, le vecteur principal de contamination humaine est la chaîne alimentaire, même si l'élimination des matières à risque spécifié réduit considérablement ce risque. Ceci pourrait avoir de très graves conséquences pour la santé publique attendu que l'ESB, par opposition à la tremblante, ne respecte pas la barrière d'espèce, et peut rendre l'homme malade.

Les nouvelles mesures ont donc plusieurs buts : il s'agit d'abord d'établir les moyens possibles de transmission de l'ESB aux moutons et aux chèvres, d'identifier les facteurs critiques impliqués dans cette transmission, de déterminer si le le risque que l'ESB existe chez les moutons et les chèvres est réel, et enfin, d'évaluer le risque

d'exposition humaine à l'ESB via les moutons et les chèvres.

Le Comité scientifique permanent (Commission Européenne, 2002) a proposé une stratégie en trois étapes qui permettra de déterminer si l'agent de l'ESB est présent chez les petits ruminants en Europe. La première étape consiste à réaliser, au sein d'un échantillon de petits ruminants statistiquement représentatif, des tests rapides identiques à ceux validés chez les bovins afin de repérer les animaux atteints d'EST. Les procédures d'échantillonnage et de test rapides sont, dans les grandes lignes, conformes à celles décrites chez les bovins (Venturini *et al.*, 2000). La technique de prélèvement a donc été transposée au petit ruminant, après adaptation de la spatule et sera décrite ci-après. Après prélèvement en laboratoire, de l'échantillon au niveau de l'obex, il est soumis au même test rapide que pour le bovin (Platelia-ESB), pour la détection de l'encéphalopathie spongiforme transmissible.

La seconde étape, lors de résultat positif, sera l'application d'au moins deux méthodes moléculaires de typage. Les méthodes moléculaires sont basées sur les propriétés des fragments résistants aux protéases spécifiques de la protéine prion (PrP^{Sc}) ou le comportement physico-chimique de ces fragments par exemple lors de la dénaturation. Ces méthodes permettent l'analyse des caractéristiques phénotypiques des PrP^{Sc} liées à la maladie chez l'hôte et peuvent être réalisées en quelques jours. Une première méthode utilise le site de clivage de la protéinase K. Tout comme chez l'homme atteint de la variante de la maladie de Creutzfeldt Jacobs, et chez la souris infectée par l'agent de l'ESB, on a observé, chez le mouton, une masse moléculaire plus petite de fragments PrP résistants à la protéinase K. Ce phénomène est associé à un site de clivage différent par la protéinase K lors de la procédure d'extraction des fragments PrP résistants.

Une seconde méthode est basée sur la glycosylation des PrP^{Sc} et le rapport de ces glycoformes des fragments PrP^{Sc} (poids moléculaire plus petit de la bande non glycosylée, rapport entre les bandes di et monoglycosylées avec une densité de bande diglycosylée plus importante lors d'ESB).

Une troisième méthode est basée sur

la résistance relative à la protéinase des PrP^{Sc}. Dans des conditions expérimentales bien définies, les PrP^{Sc} provenant d'isolats expérimentaux d'infection par l'agent de la tremblante ou de l'ESB montrent des cinétiques de dégradation différentes lors d'exposition prolongée à la protéinase K. Les PrP^{Sc} bovines semblent très sensibles à la protéinase K alors que les PrP^{Sc} de la plupart des types de tremblantes montrent une grande résistance.

Une quatrième méthode est basée sur la conformation moléculaire des PrP^{Sc}.

L'approche immunohistochimique utilise quant à elle des anticorps anti-PrP dirigés contre certains peptides de la protéine, et permettent de distinguer des infections par l'agent de la tremblante et l'infection par l'agent de l'ESB chez des moutons de génotype ARQ/ARQ.

La troisième étape consiste à réaliser le typage biologique chez la souris : dans ce cas, c'est la période d'incubation, les caractéristiques de distribution et l'étendue des lésions spongiforme au niveau du cerveau (profil lésionnel) qui sont prises en compte et permettent à coup sûr de différencier les différents agents des EST de celui de l'ESB. Le Comité scientifique permanent considère que le protocole complet de typage après expérimentation sur la souris est la seule méthode valable pour confirmer ou infirmer la présence de l'ESB chez les petits ruminants. Ce protocole est très long et pour l'instant, il faut deux ans pour qu'il soit entièrement terminé. Aucune autre caractéristique clinique ou pathologique ne peut permettre de conclure définitivement à la présence de l'ESB même si des résultats préliminaires semblent indiquer que les nouveaux tests pourraient en être capables. De nouvelles méthodes de typage biologique se développent actuellement et visent à réduire la période d'incubation. Elles sont basées sur l'utilisation de souris transgéniques (« Tg ») chez qui le gène qui produit la protéine prion (souris) a été remplacé par le gène correspondant du mouton. Chez ces animaux tests, la barrière d'espèce est considérablement réduite, et la période d'incubation fortement diminuée par rapport à la souris normale. Lors de contamination par l'agent de la tremblante, la période d'incubation peut n'être que de 70 jours (elle peut cependant aller de 240 à 500 jours en fonction du type

d'agent de la tremblante testé). Pour l'EST, on considère que la transmission à une souris transgénique est effective après 1 an dans la majorité des cas.

Lors de l'échantillonnage chez le mouton, on va également prélever du sang, avec lequel sera réalisé un génotype afin de déterminer la sensibilité de l'animal à la tremblante. La relation entre le génotype du mouton et la sensibilité à l'EST est très similaire pour la tremblante et l'ESB, et donc une sélection de moutons résistants à la tremblante pourrait amener une résistance à l'ESB. Cette sensibilité peut être estimée au moyen de codons qui se trouvent en position 136, 154 et 171 du gène PNRP qui code pour la protéine prion normale PrPc (Peelman et Van Poucke, 2002). La plupart des moutons sensibles à la tremblante sont homozygotes pour la glutamine (Q) au codon 171 et succombent à la maladie avec des génotypes ARQ/ARQ, VRQ/VRQ, VRQ/ARQ. Cependant, avec une même configuration génomique, il peut y avoir des différences de sensibilité entre races de moutons. La tremblante survient de manière occasionnelle chez les moutons ARQ/ARR et VRQ/ARR. Les moutons ARR/ARR sont considérés comme les plus résistants à la tremblante et ne montrent que des taux très bas de PrP^{Sc}. Une sélection rigoureuse pourrait donc aboutir à la sélection de lignées de moutons résistants à la tremblante.

Le but de ce travail sera de décrire les différences morphologiques qui apparaissent entre le mouton et le bovin lors du prélèvement de la région de l'obex de l'isthme encéphalique et qui ont rendu nécessaire l'adaptation de la technique. Ces différences vont être développées et illustrées dans le texte qui suit. Étant donné le peu d'information de la littérature à ce sujet, un grand nombre de données morphométriques concernant l'isthme encéphalique du mouton adulte seront citées.

Matériel et méthodes

Les cerveaux de 15 moutons adultes ont été prélevés après avoir décalotté la boîte crânienne à l'aide d'une scie oscillante. Les moutons possédaient entre 4 et 8 incisives permanentes et avaient donc certainement dépassé l'âge de 18 mois. Les cerveaux de deux bovins ont également été prélevés afin d'être comparés quant à leur

morphologie et leurs mensurations à ceux des moutons. Les bovins étaient âgés de 6 et 90 mois.

L'isthme encéphalique se définit comme étant la région qui forme la liaison entre les hémisphères cérébraux et le cervelet en avant, et la moelle épinière en arrière. La transition avec la moelle épinière est située caudalement par rapport à la naissance des douzièmes nerfs crâniens et se caractérise par un rétrécissement prononcé. L'isthme encéphalique a été séparé du cervelet en sectionnant les pédoncules cérébelleux. Les hémisphères cérébraux ont été séparés grâce à une incision en arc réalisée en avant des bandelettes optiques.

Le poids et la longueur de l'encéphale entier et de l'isthme encéphalique séparé sont notés. La largeur de l'isthme encéphalique est mesurée au niveau de différents segments : au niveau des tubercules quadrijumeaux antérieurs (A), des pédoncules cérébelleux (B), et de l'obex (C). La largeur de la moelle épinière est mesurée 1 cm en arrière de la jonction avec l'isthme encéphalique (D) (Figure 1). Les mesures ont été réalisées à l'aide d'un vernier.

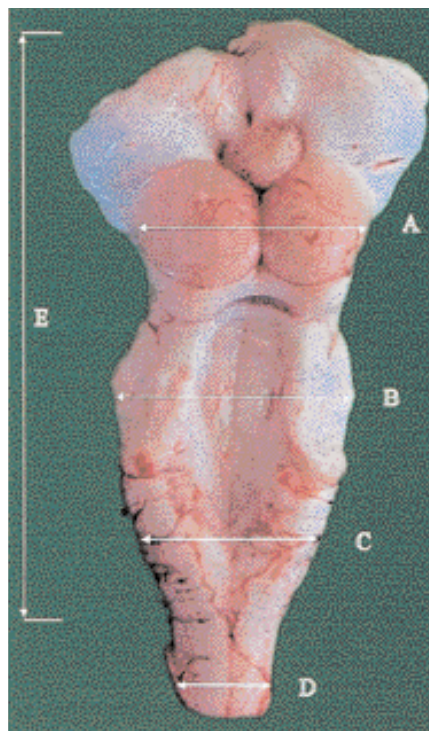


Figure 1 : Vue dorsale de l'isthme encéphalique d'un mouton adulte avec différents points de repère.

- A = largeur au niveau des tubercules quadrijumeaux antérieurs
- B = largeur au niveau des pédoncules cérébelleux
- C = largeur au niveau de l'obex
- D = largeur de la moelle épinière 1 cm en arrière de la jonction avec le bulbe rachidien
- E = longueur de l'isthme encéphalique

RÉSULTAT ET DISCUSSION

Prélèvement de l'isthme encéphalique

En raison des dimensions plus petites de l'isthme encéphalique du mouton, quand on le compare à celui du bovin, la technique de prélèvement a dû être adaptée. Le prélèvement a été réalisé sur des têtes de mouton qui ont été désarticulées au niveau de l'articulation atlanto-occipitale. Quand d'autres techniques de décapitation ont été utilisées (par exemple, l'abattage rituel), il peut arriver que la première ou la deuxième vertèbre cervicale (l'atlas et l'axis) persiste. Ces dernières doivent dans chaque cas être ôtées afin de mettre en évidence le trou occipital (*foramen magnum*) et les deux condyles occipitaux (*condyli occipitalis*).

La tête est déposée sur une table de dissection, avec le chanfrein et le front au contact de la table. Au niveau du trou occipital, on peut voir la section ovale de la partie caudale du bulbe rachidien ou le début de la moelle épinière qui a un diamètre plus petit. Ces structures sont entourées par une fine couche adhérente de pie-mère, elle-même entourée par un large espace sous-arachnoïdien, et la dure-mère, résistante, blanchâtre et luisante. Une spatule de prélèvement spéciale (Figure 2) est utilisée. Elle est introduite avec un angle approximatif de 60° dans le trou occipital, dans l'espace sous-arachnoïdien, le long du côté ventral de l'isthme. L'espace sous-arachnoïdien est, chez les petits ruminants, toujours nette-

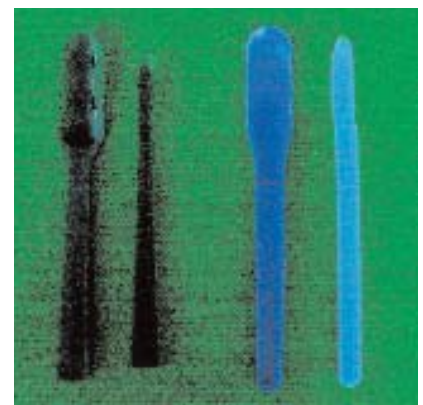


Figure 2 : A gauche : spatule de prélèvement verte pour le bovin (grande) et pour le mouton (petite). A droite : spatules de prélèvement développées récemment (bleues). Les petites élevures de la concavité de la spatule ont disparu et celle-ci est lisse et courbe.

ment plus large du côté ventral de l'isthme encéphalique que du côté dorsal. Cette introduction se fait donc différemment de chez le bovin, où l'on introduit la spatule le long du bord dorsal de l'isthme encéphalique et avec un angle d'introduction approximatif de 45°. La figure 3 illustre la procédure de prélèvement dans les deux espèces.

La curette est introduite profondément en direction rostrale dans la boîte crânienne, de sorte qu'elle se trouve complètement dans l'espace sous-arachnoïdien. On lui imprime alors des mouvements semi-circulaires jusqu'à ce que le manche fasse un tour complet de 360°.

On sort progressivement la curette vers l'extérieur via le trou occipital avec le morceau d'isthme encéphalique dans la concavité de la spatule.

La conformité du prélèvement peut être vérifiée grâce à l'identification de structures importantes. Sur la face ventrale de l'isthme encéphalique, on peut reconnaître la protubérance annulaire (*pons*), sorte de bande convexe, blanche, striée transversalement. Caudalement, on reconnaît les pyramides (*pyramides*), qui sont séparées l'une de l'autre par le sillon médian ventral (*fissura mediana ventralis*), qui loge l'artère basilaire (*arteria basilaris*). En face dorsale, on trouve une fosse losangique: la fosse rhomboïdale (*fossa rhomboïdea*)

qui constitue le plancher du quatrième ventricule. Sa partie antérieure est constituée par la face dorsale de la protubérance annulaire, elle est bordée latéralement par les pédoncules cérébelleux antérieurs, qui, sectionnés obliquement, sont assez difficiles à identifier. La fosse rhomboïdale est parcourue par un sillon médian (*sulcus medianus*) appelé Calamus scriptorius par les anciens anatomistes. En arrière, ce sillon aboutit à l'extrémité postérieure du 4^e ventricule ou bec du Calamus. A ce niveau, le canal de l'épendyme de la moelle débouche dans le 4^e ventricule. Cette ouverture est surmontée d'une petite lame grise transversale, reliant les deux corps restiformes (*corpus restiforme*), l'obex (*obex*) ou verrou.

Ces structures doivent impérativement être identifiées sur le prélèvement, car c'est dans cette région que se trouvent de nombreux noyaux gris importants pour la recherche de l'ESB (Foster *et al.*, 1996; Jeffrey *et al.*, 2001) (Figure 4).



Figure 3a : Prélèvement de l'isthme encéphalique chez le bovin.

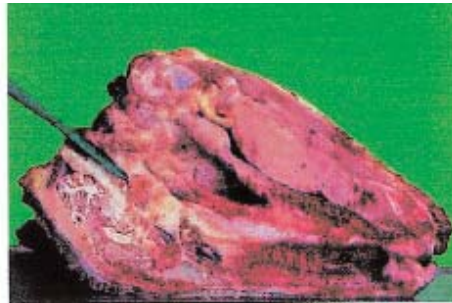


Figure 3b : Prélèvement de l'isthme encéphalique chez le mouton.

Morphométrie de l'isthme encéphalique et différences entre espèces

Suite à l'examen des crânes de mouton, les informations morphométriques suivantes ont été dégagées. Le poids de l'isthme encéphalique est de $19,00 \pm 2,80$ g; la longueur est de $5,95 \pm 0,21$ cm; la largeur au niveau des tubercules quadrijumeaux antérieurs est de $2,59 \pm 0,08$ cm; la largeur au niveau des pédoncules cérébelleux est de $2,92 \pm 0,09$ cm et la largeur au niveau de l'obex est de $2,05 \pm 0,08$ cm. Un cm après sa jonction avec le bulbe rachidien, la moelle épinière a une largeur de $1,09 \pm 0,09$ cm. Le poids total de l'encéphale est de $108,80 \pm 10,26$ g et sa longueur de $9,16 \pm 0,46$ cm.

L'isthme encéphalique du mouton représente 17,4 % du poids total de l'encéphale et 65 % de sa longueur.

D'après les chiffres qui précèdent, et également en regardant la figure 5, on se rend compte qu'aussi bien chez le mouton que chez le bovin, l'isthme encéphalique se rétrécit progressivement à partir des pédoncules cérébelleux jusqu'à la jonction avec la moelle épinière. Ce rétrécissement est beaucoup plus marqué chez le mouton que chez le bovin. Chez le mouton, la largeur de la moelle épinière ne

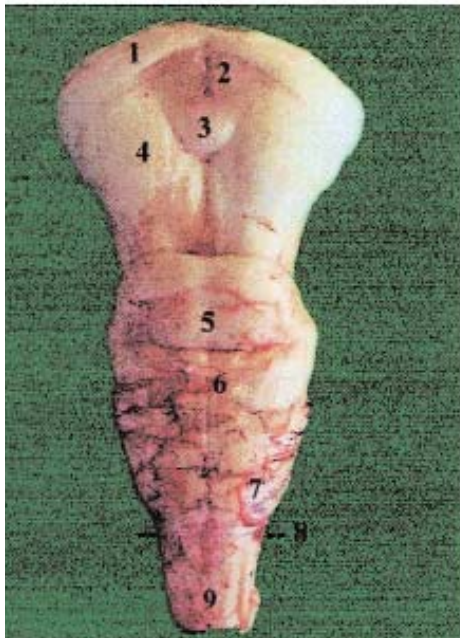


Figure 4a : Vue ventrale de l'isthme encéphalique et du début de la moelle épinière chez un mouton adulte.

1. Bandelette optique
2. Infundibulum
3. Tubercule mamillaire
4. Pied du pédoncule cérébral
5. Protubérance annulaire
6. Pyramide
7. Origine apparente du douzième nerf crânien
8. Jonction du bulbe rachidien et de la moelle épinière
9. Moelle épinière

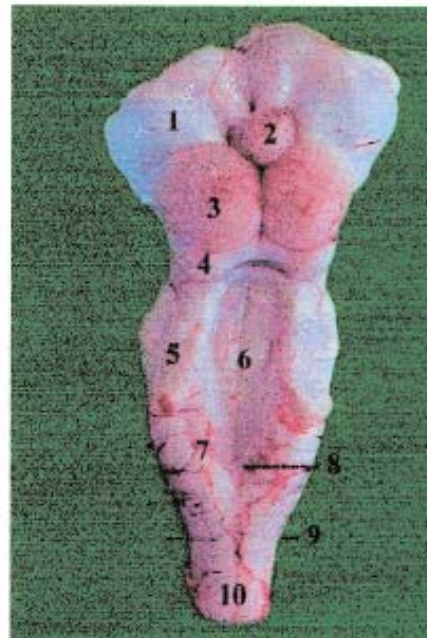


Figure 4b : Vue dorsale de l'isthme encéphalique et du début de la moelle épinière chez un mouton adulte.

1. Thalamus
2. Epiphyse
3. Tubercule quadrijumeau antérieur
4. Tubercule quadrijumeau postérieur
5. Pédoncules cérébelleux
6. Fosse rhomboïdale (plancher du quatrième ventricule)
7. Corps restiforme
8. Verrou ou obex
9. Jonction du bulbe rachidien et de la moelle épinière
10. Moelle épinière

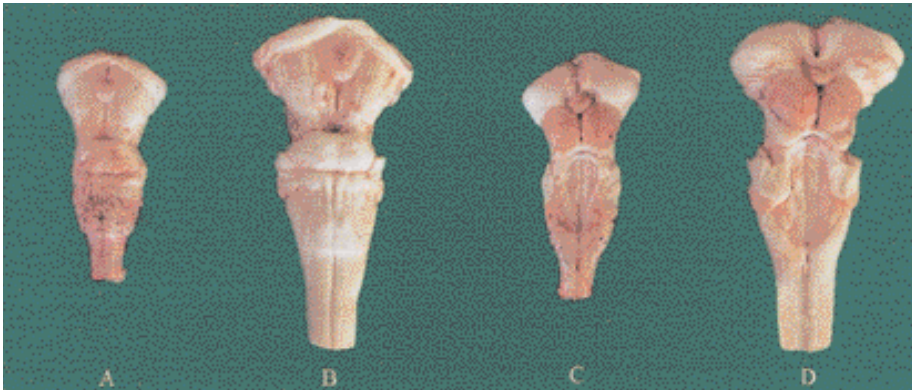


Figure 5 : Vues ventrales (A et B) et dorsales (C et D) de l'isthme encéphalique et du début de la moelle épinière chez le mouton (A et C) et le bovin (B et D)



Figure 6 : Echantillonnage chez le bovin

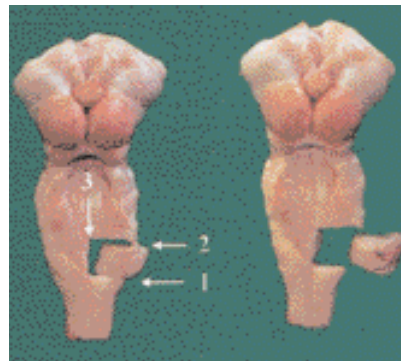


Figure 7 : Echantillonnage chez le mouton. Les endroits où les incisions sont réalisées sont indiqués avec des chiffres

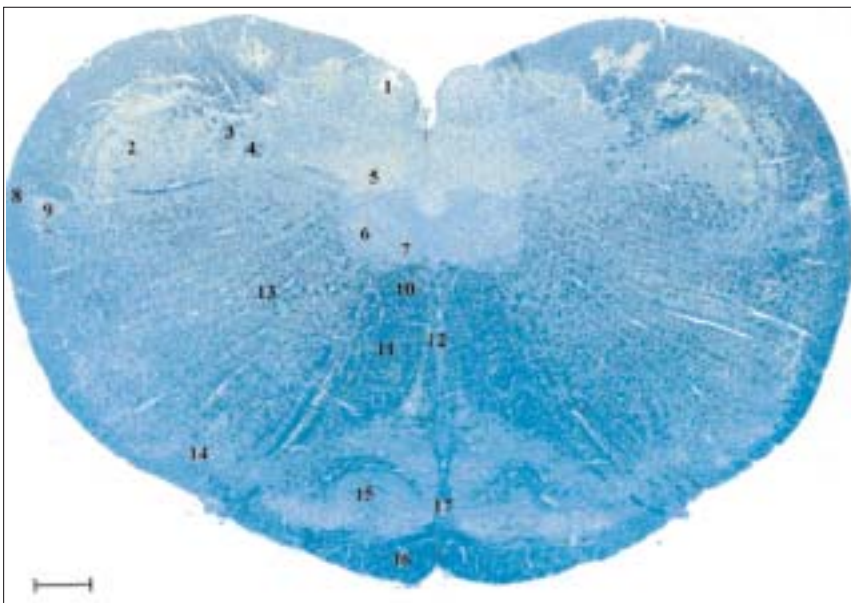


Figure 8 : Aspect histologique d'une section transversale de l'isthme encéphalique au niveau de l'obex. La coloration utilisée (de Weil) colore les faisceaux nerveux en foncé (bleu foncé) et les corps neuronaux en rose clair (repère = 1 mm)

- | | |
|--|--|
| 1. Noyau gracile (<i>Nucleus gracilis</i>) | 9. Noyau du tractus spinal du nerf trijumeau (<i>Nucleus tractus spinalis nervi trigemini</i>) |
| 2. Noyau cunéiforme (<i>Nucleus cuneatus</i>) | 10. Faisceau longitudinal médial (<i>Fasciculus longitudinalis medialis</i>) |
| 3. Faisceau solitaire (<i>Tractus solitarius</i>) | 11. Lemnisque médial (<i>Lemniscus medialis</i>) |
| 4. Noyau du faisceau solitaire (<i>Nucleus tractus solitarii</i>) | 12. Décussation lemniscale médiale (<i>Decussatio lemniscorum medialis</i>) |
| 5. Noyau dorsal du nerf vague (<i>Nucleus dorsalis nervi vagi</i>) | 13. Formation réticulée (<i>Formatio reticularis</i>) |
| 6. Noyau du nerf hypoglosse (<i>Nucleus nervi hypoglossi</i>) | 14. Noyau du cordon latéral (<i>Nucleus funiculi lateralis</i>) |
| 7. Noyau intercalé ou intercalaire de Staderini (<i>Nucleus intercalatus</i>) | 15. Noyau olivaire (<i>Nucleus olivaris</i>) |
| 8. Faisceau spinal du nerf trijumeau (<i>Tractus spinalis nervi trigemini</i>) | 16. Pyramide (<i>Pyramis</i>) |
| | 17. Décussation pyramidale (<i>Decussatio pyramidum</i>) |

représente que 37 % de la largeur de l'isthme encéphalique au niveau des pédoncules cérébelleux, alors qu'elle en représente 47 % chez le bovin. Ce rétrécissement prononcé, ainsi que les dimensions plus petites de l'isthme encéphalique du mouton (Figure 5) ont nécessité une adaptation de la technique d'échantillonnage qui est réalisée dans la région de l'obex au laboratoire.

Prélèvement

L'échantillon est prélevé au niveau des corps restiformes dans la région de l'obex et d'un seul côté du bulbe rachidien, l'autre côté étant réservé à une éventuelle contre-expertise. L'obex est une petite lame nerveuse grise transversale qui recouvre l'extrémité caudale du quatrième ventricule (Figure 4b).

Chez le bovin, l'échantillon est prélevé au moyen d'une seringue spéciale de la firme Bio-Rad (Nazareth, Belgique) (Figure 6). Elle est introduite de l'arrière vers l'avant, depuis la partie caudale sectionnée de l'isthme encéphalique prélevé jusqu'au corps restiforme, de sorte que le matériel soit prélevé dans la région de l'obex.

Chez le mouton, cette technique ne peut pas être appliquée en raison des dimensions beaucoup plus petites et du rétrécissement prononcé entre l'extrémité caudale du bulbe rachidien et le début de la moelle épinière. Le prélèvement se fait donc à l'aide d'un bistouri (Figure 7). A nouveau, l'échantillon ne concernera qu'un des deux corps restiformes. Une première incision est réalisée au niveau du corps restiforme, un peu en arrière de l'obex. Une seconde incision est réalisée plus ou moins 5 mm en avant de la première. Ensuite, une incision sur le plan médian est réalisée, entre les deux premières incisions, de façon à pouvoir détacher l'échantillon.

Aspect histologique dans la région de l'obex

La figure 8 montre l'aspect histologique d'une section transversale réalisée dans la région de l'obex chez un mouton adulte.

CONCLUSION

La technique de prélèvement de l'isthme encéphalique à l'abattoir diffère chez le mouton par rapport au bovin. La curette de prélèvement a été adaptée dans sa forme et ses dimensions afin de pouvoir être introduite par le trou occipital et de permettre d'isoler les parties caudales de l'isthme encéphalique. La technique a été modifiée: la curette est introduite dans l'espace sous arachnoïdien ventral alors qu'elle était introduite dans l'espace sous arachnoïdien dorsal chez le bovin. L'angle d'introduction de la curette est plus grand chez le mouton (60°) que chez le bovin (45°).

L'étude morphométrique a permis de constater que l'isthme encéphalique se rétrécit progressivement à partir des pédoncules cérébelleux jusqu'à la jonction avec la moelle épinière. Ce rétrécissement est beaucoup plus

marqué chez le mouton que chez le bovin et justifie le fait que la seringue de prélèvement utilisée pour prélever l'échantillon en laboratoire chez le bovin n'a pas pu être utilisée chez le mouton. Le prélèvement est donc réalisé au moyen d'un bistouri dans un des corps restiformes dans la région de l'obex.

Abstract : Sampling of the ovine brainstem for TSE-Testing

SUMMARY

Since 1 April 2002, the European Union has extended the Transmissible Spongiform Encephalopathy testing in ruminants by including sheep and goats in the

survey studies. Like for the bovine species, the diagnostic protocol is performed on a tissue sample of the brain stem collected at the level of the obex. Morphological differences of the brain stem of sheep and goats, in comparison with the bovine species, have required some adjustments to the sampling method and equipment. In this study, the technical aspects of sampling and a number of morphologic parameters of the ovine brain stem are described. The essential differences, compared to the bovine species, concern the dimensions and the more pronounced caudal narrowing of the brain stem.

BIBLIOGRAPHIE

- BUTLER D. Doubts over ability to monitor risks of ESB spread to sheep. *Nature*, 1998, **395**, 6-7.
- COMMISSION EUROPÉENNE (EUROPEAN COMMISSION). Opinion on the risk of infection of sheep and goats with Bovine Spongiform Encephalopathy agent Adopted by the Scientific Steering Committee at its meeting of 24-25 September 1998). Adresse URL: http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/ssc/out24_en.pdf. Consulté le 1er juillet 2002.
- COMMISSION EUROPÉENNE (EUROPEAN COMMISSION). Opinion of the Scientific Steering Committee of the European Commission on "Pre-emptive risk assessment should ESB in small ruminants be found under domestic conditions" (adopted on 8-9 February 2001). [en ligne] Adresse URL: http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/ssc/out170_en.pdf. Consulté le 1er juillet 2002.
- COMMISSION EUROPÉENNE (EUROPEAN COMMISSION). Règlement (CE) n° 1248/2001 de la Commission du 22 juin 2001 modifiant les annexes III, X et l'annexe XI du règlement (CE) n° 999 /2001 du Parlement Européen et du Conseil relatif à la surveillance et au dépistage épidémiologique des encéphalopathies spongiformes transmissibles. *Journal officiel des Communautés Européennes*, 27/06/2001, L 173/12-L 173/22. http://europa.eu.int/eurlex/pri/fr/oj/dat/2001/l_173/l_173_20010627fr00120022.pdf
- COMMISSION EUROPÉENNE (EUROPEAN COMMISSION). Extension of TSE Test in sheep and goats. Press release IP/02/255 of 14 February 2002. http://europa.eu.int/rapid/start/cgi/guesten.ksh?p_action=gettxt=gt&doc=IP/02/255|0|AGED&lg=EN&display=
- COMMISSION EUROPÉENNE (EUROPEAN COMMISSION) Strategy to investigate the possible presence of BSE in sheep. Adopted by the Scientific Steering Committee at his meeting of 04-05 April 2002). [en ligne] Adresse URL: http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/ssc/out256_en.pdf. Consulté le 1er juillet 2002.
- FOSTER J.D., PARNHAM D.W., HUNTER N., BRUCE M. Distribution of the prion protein in sheep terminally affected with ESB following experimental oral transmission. *J. Gen. Virol.*, 2001, **82**, 2319-2326.
- FOSTER J.D., WILSON M., HUNTER N. Immunolocalisation of the prion protein (PrP) in the brains of sheep with scrapie. *Vet. Rec.* 1996, **130**, 512-515.
- JEFFREY M., MARTIN S., GONZALEZ L., RYDER S.J., BELLWORTHY S.J., JACKMAN R. Differential diagnosis of infections with the bovine spongiform encephalopathy (ESB) and scrapie agents in sheep. *J. of Comp. Pathol.*, 2001, **125**, 271-284.
- PEELMAN L.J., VAN POUCKE M. Genetische aspecten van scrapie bij schapen. *Vlaam. Diergeneesk. Tijdschr.*, 2002, **71**, 2-10.
- VENTURINI M., SIMOENS P., DE JAEGER C. Obductie van runderhersenen voor het ESB-onderzoek. *Vlaam. Diergeneesk. Tijdschr.*, 2000, **69**, 377-381.