

*Programme de certification relatif à la
maladie débilatante chronique chez les
cervidés (MDC)*

Prélèvements et analyses



Institut national de santé animale

Agriculture, Pêcheries
et Alimentation

Québec 

PLAN DE LA PRÉSENTATION

- PRÉLÈVEMENTS SUR LE TERRAIN
 - du tronc cérébral avec l'obex
 - des ganglions lymphatiques rétropharyngiens
- CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS
- LES ÉPREUVES DE LABORATOIRE
 - IHC
 - Western blot
 - ELISA
- INTERPRÉTATION DES ÉPREUVES

PRÉLÈVEMENTS SUR LE TERRAIN

Espèces

Wapiti, cerf
rouge, daim,
renne

Cerf de Virginie, cerf
mulet, cerf à queue
noir (zoo)

Échantillons
analysés en
1er

Tronc cérébral avec
l'obex

Ganglion
lymphatique
rétropharyngien
gauche et droit

Échantillons
analysés en
2 ième

Ganglion
lymphatique
rétropharyngien
gauche et droit

Tronc cérébral avec
l'obex

Prélèvement du tronc cérébral avec l'obex

Réf.: *Obex Removal for TSE Surveillance*, MJ Hazlett, University of Guelph

■ En utilisant un large couteau aiguisé, désarticuler la tête de la carcasse au niveau du joint atlanto-occipital.

Il est plus facile de procéder si la tête pend à l'extrémité d'une table ou d'un billot.



■ Avec des ciseaux et une pince à dents de souris, retirer la dure-mère au travers de l'ouverture du foramen magnum (f.m.) afin d'exposer la moelle et le cervelet.



- Au travers du f.m., insérer un bistouri rostralement dans la cavité crâniale en le faisant glisser d'un côté à l'autre, jusqu'à ce qu'il rencontre l'os.

S'assurer que la lame soit parallèle à la surface dorsale du tronc cérébral (t.c.) mais ventrale au cervelet

- Pivoter la lame du bistouri et dégager délicatement les côtés du cervelet. Sectionner tous les nerfs autour de la circonférence du t.c.



- Retirer le bistouri.

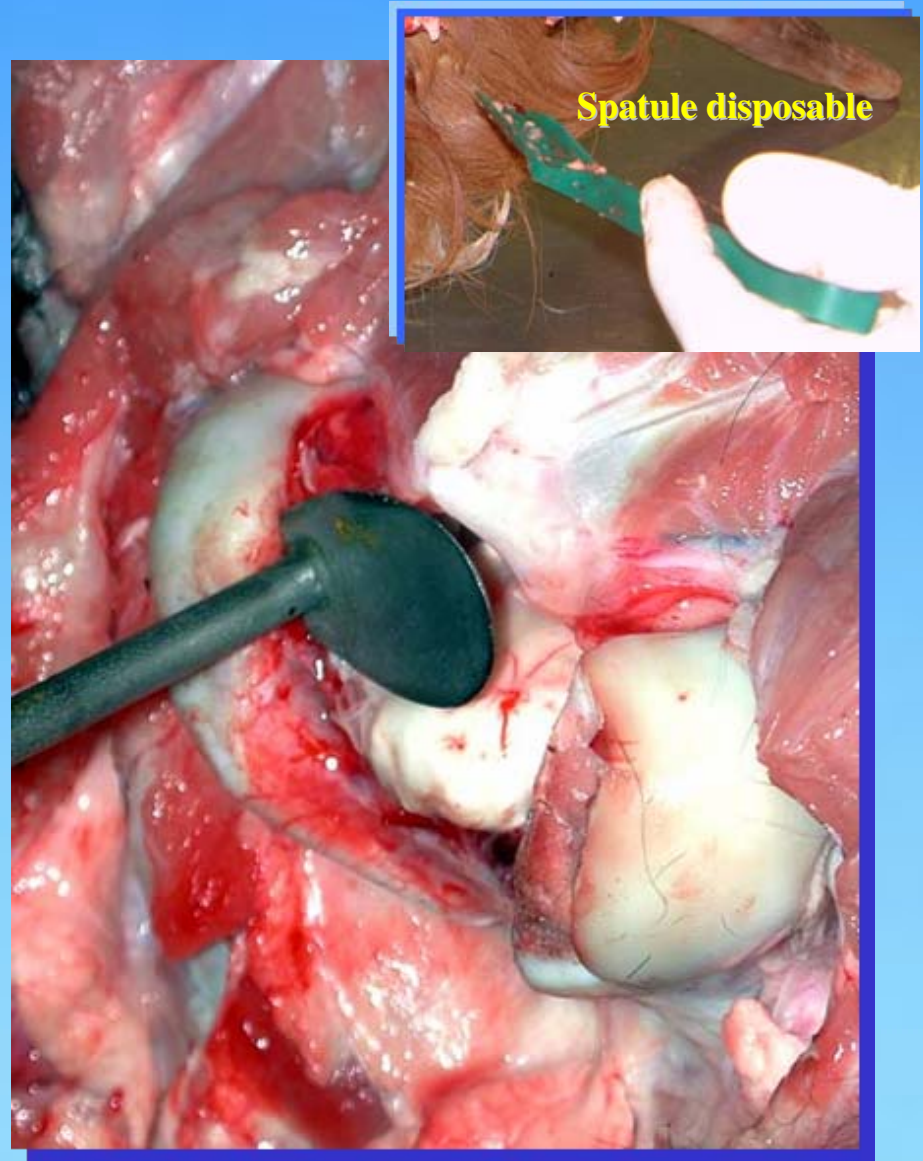
- Insérer la spatule au travers du f.m.

la partie aiguisée de la spatule faisant face latéralement

- Pousser la lame de 3 à 4 po.

le début du manche de la spatule devrait être approximativement entré au 2/3 dans la cavité craniale

- Pivoter la spatule ventralement, puis dorsalement, afin de sectionner le tronc cérébral.



- Agripper l'extrémité caudale du t.c. avec la pince à dents de souris. Tirer délicatement et caudalement la spatule et la pince afin de retirer le tronc cérébral et l'obex.

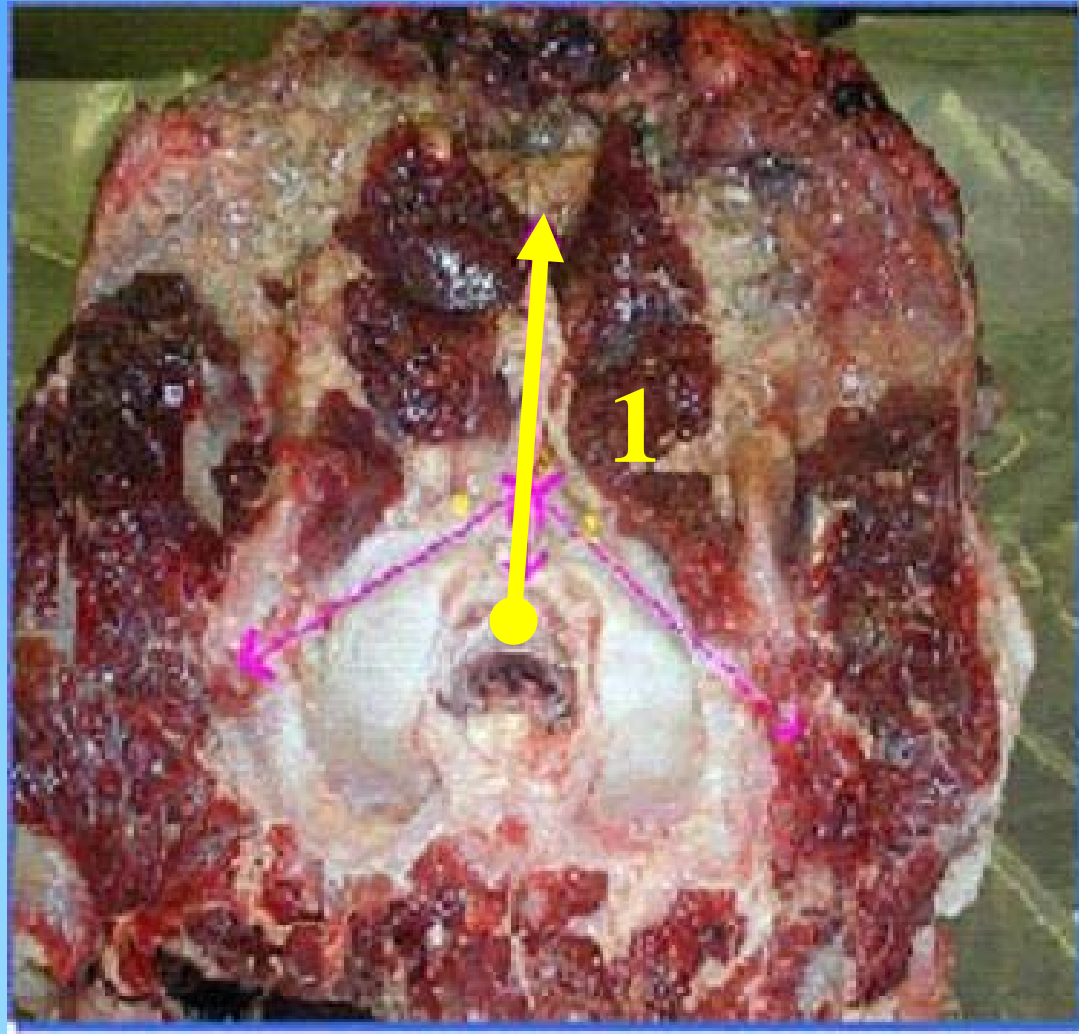


Prélèvement des ganglions lymphatiques rétropharyngiens

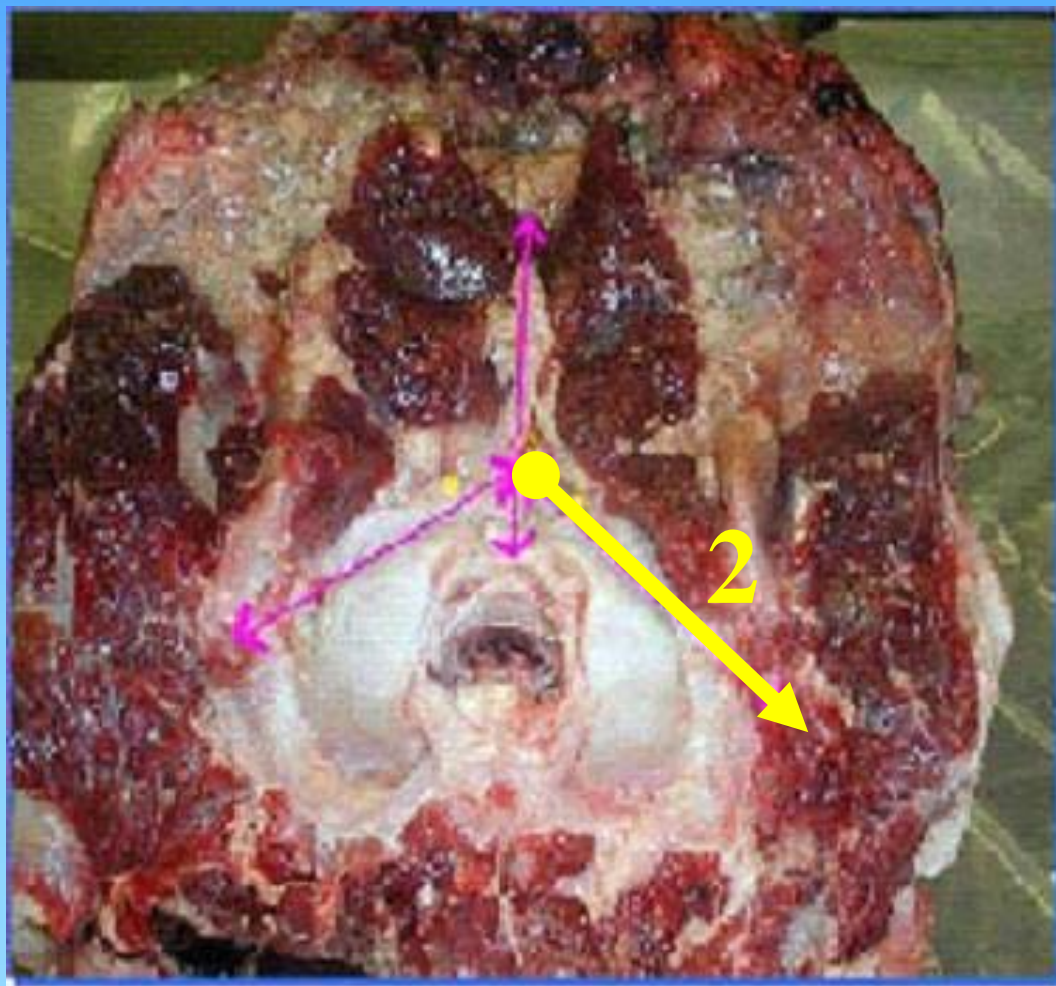
Réf.: Michigan Department of Agriculture 2002 CWD Coordinator, Dr. Rachel Cezar and USDA Field
VMO, Dr Joe Odziana. at:

http://www.michigan.gov/documents/MDA_CWD05_MRPLN_61535_7.pdf

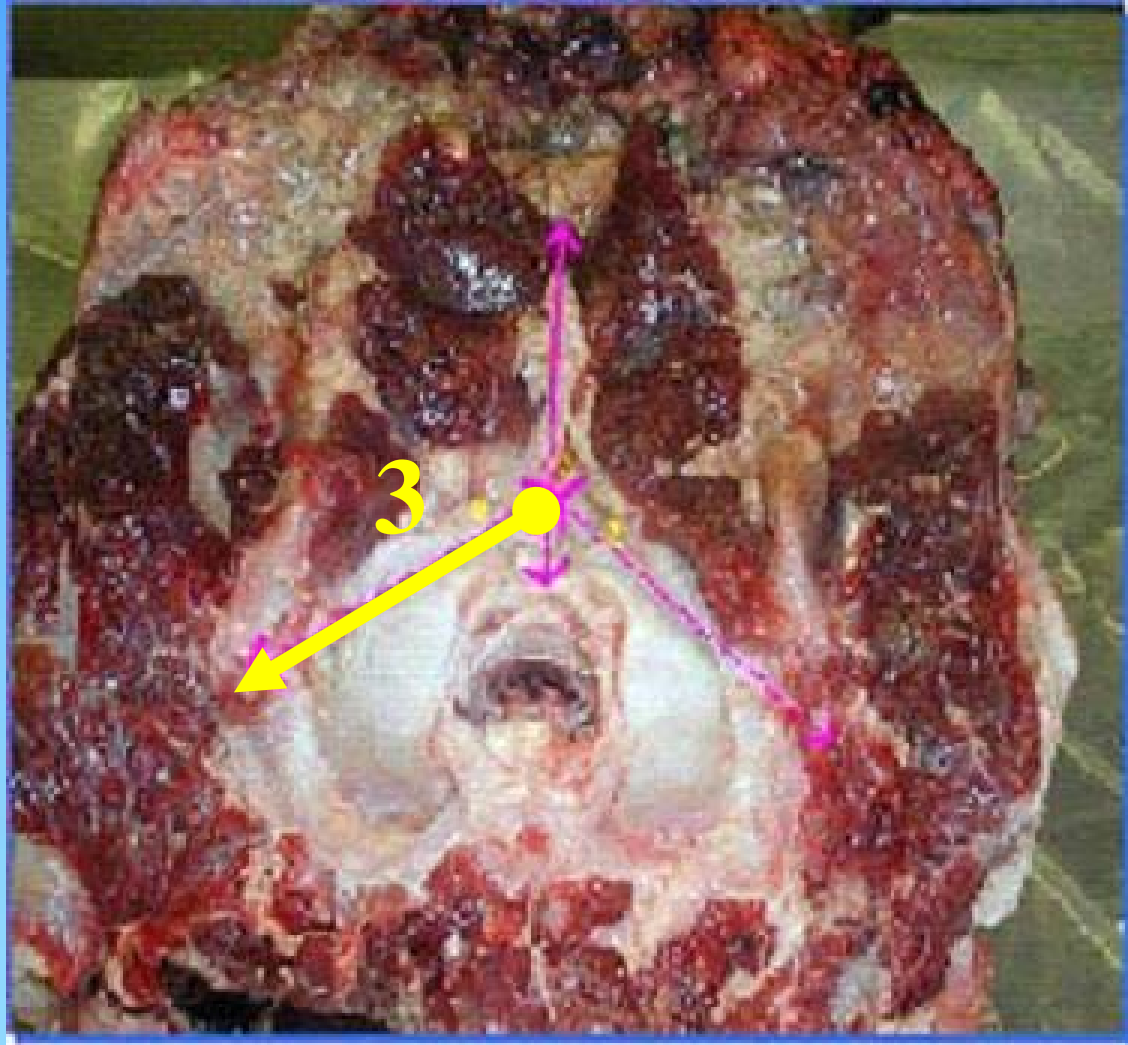
1. Avec un couteau à désossé, faire une première incision transcutanée en partant du dessus du milieu du crâne, au-dessus du foramen magnum, et en montant vers la surface.



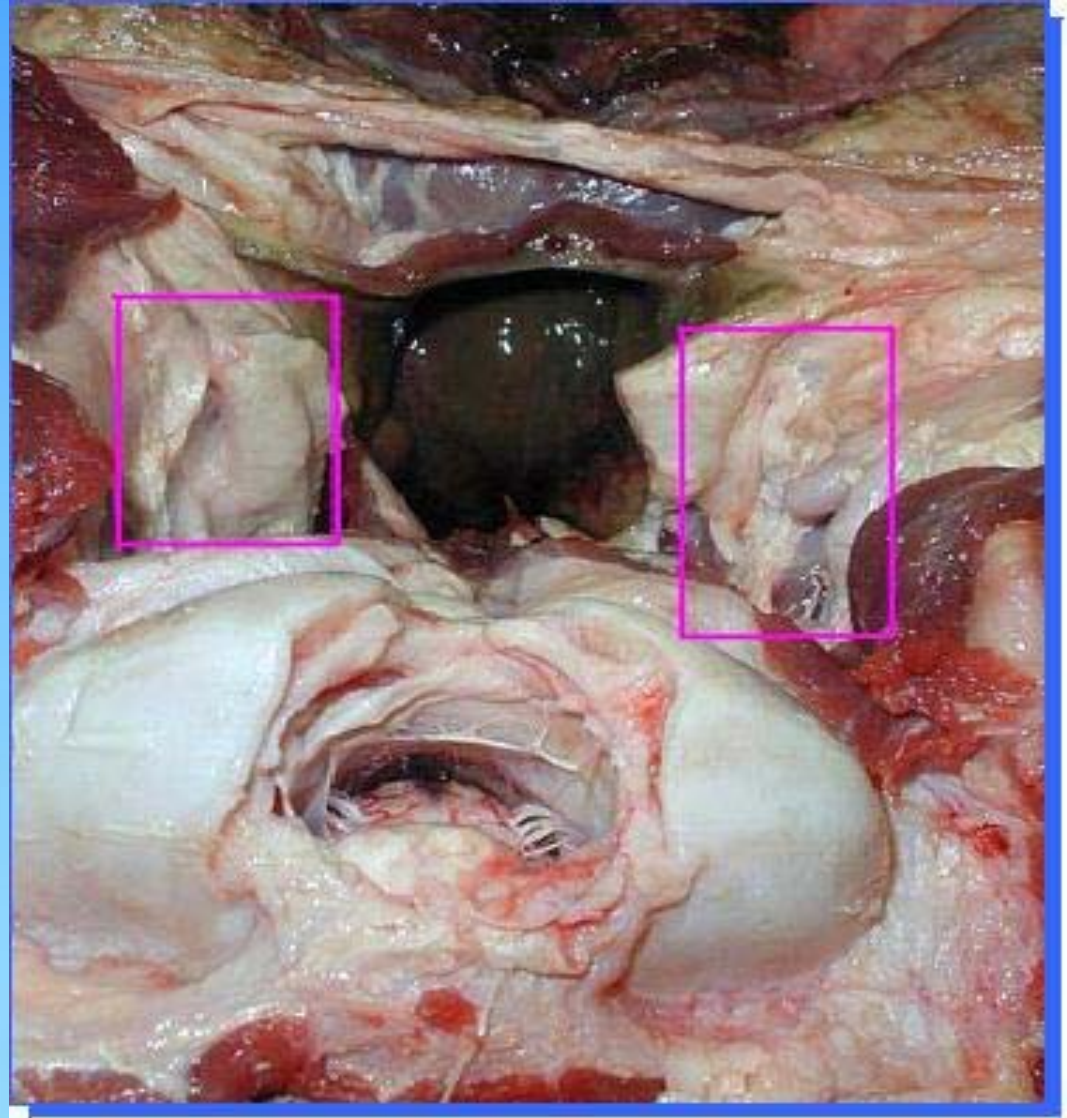
2. Faire une deuxième incision à partir du début de la première en demeurant proche de la base du crâne et en déplaçant le couteau vers la droite, comme pour désosser.



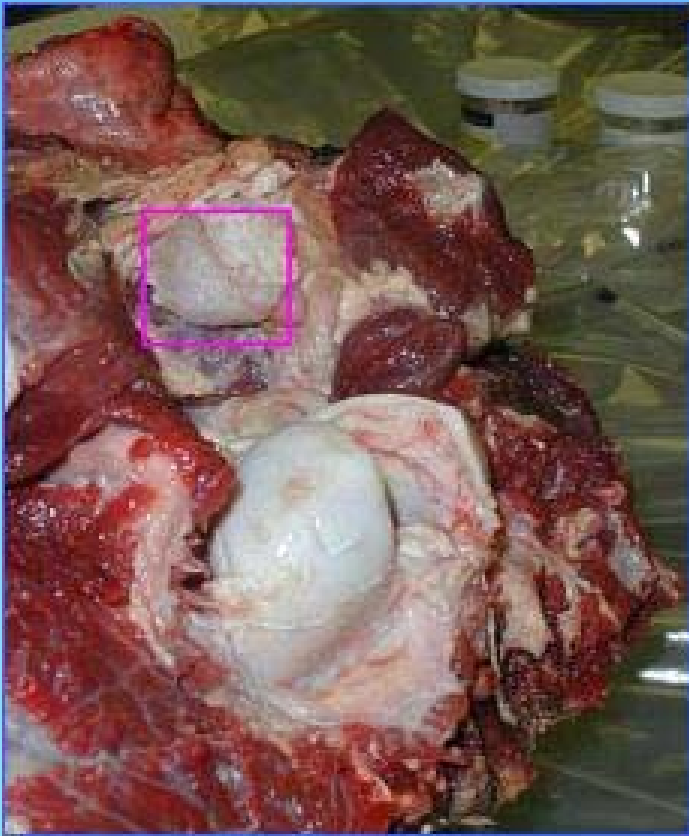
3. Faire la troisième incision en débutant au même endroit que la deuxième mais cette fois en se dirigeant vers la gauche, toujours en restant proche du crâne



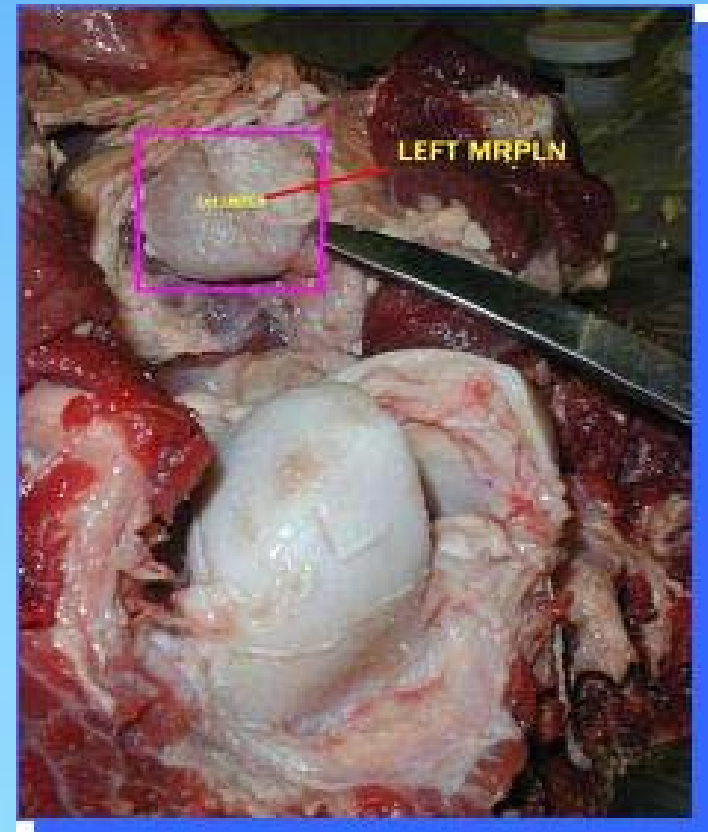
Une fois les 3 incisions faites, une zone de tissus conjonctif blanc et de gras apparaît de chaque côté de l'ouverture.



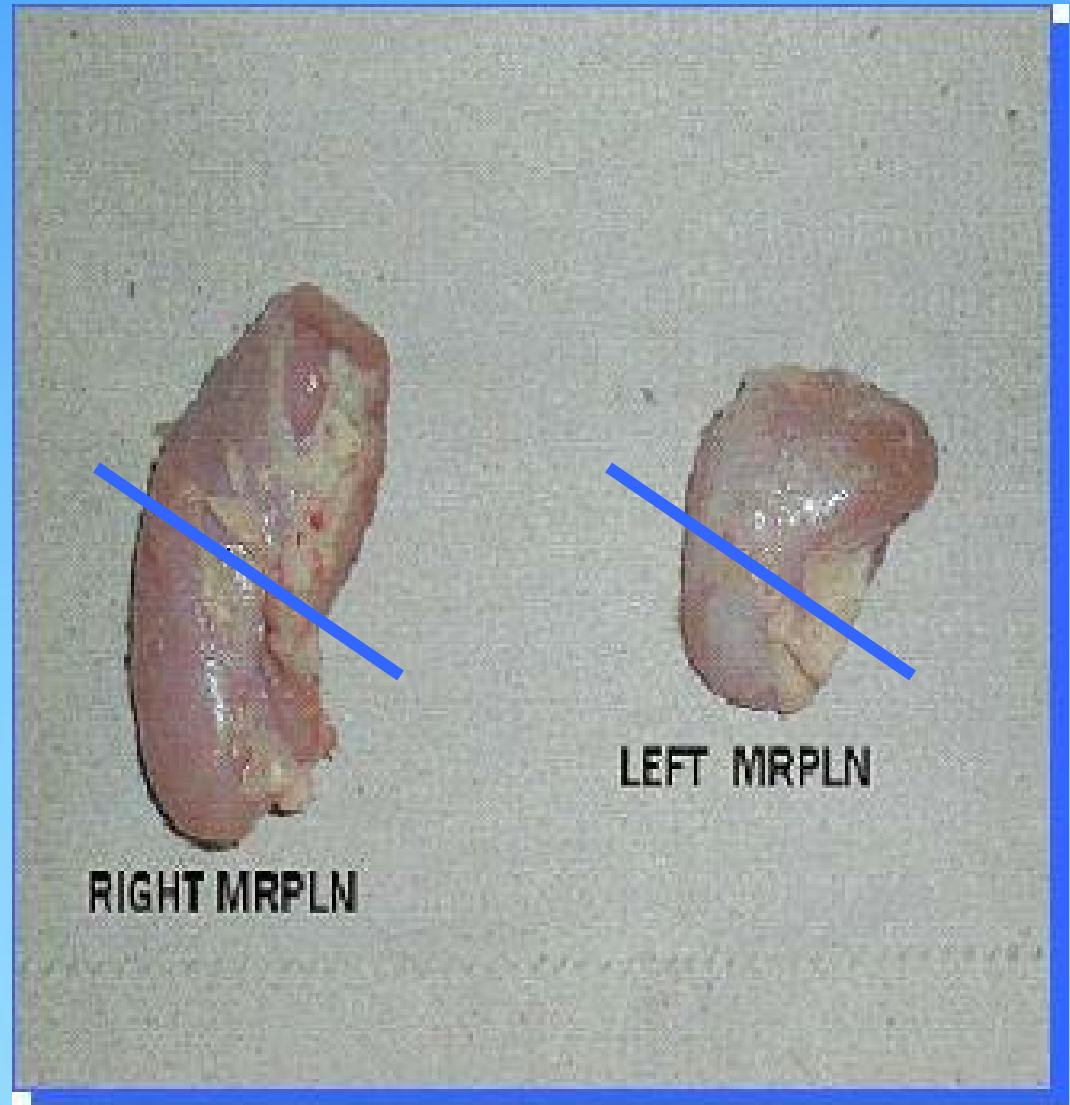
Avec les doigts gantés ou une paire de ciseaux, procéder grossièrement à la dissection des ganglions lymphatiques rétropharyngiens enfouis dans ce tissu conjonctif blanc. Ces ganglions sont:



- assez gros
- fermes
- de couleur beige



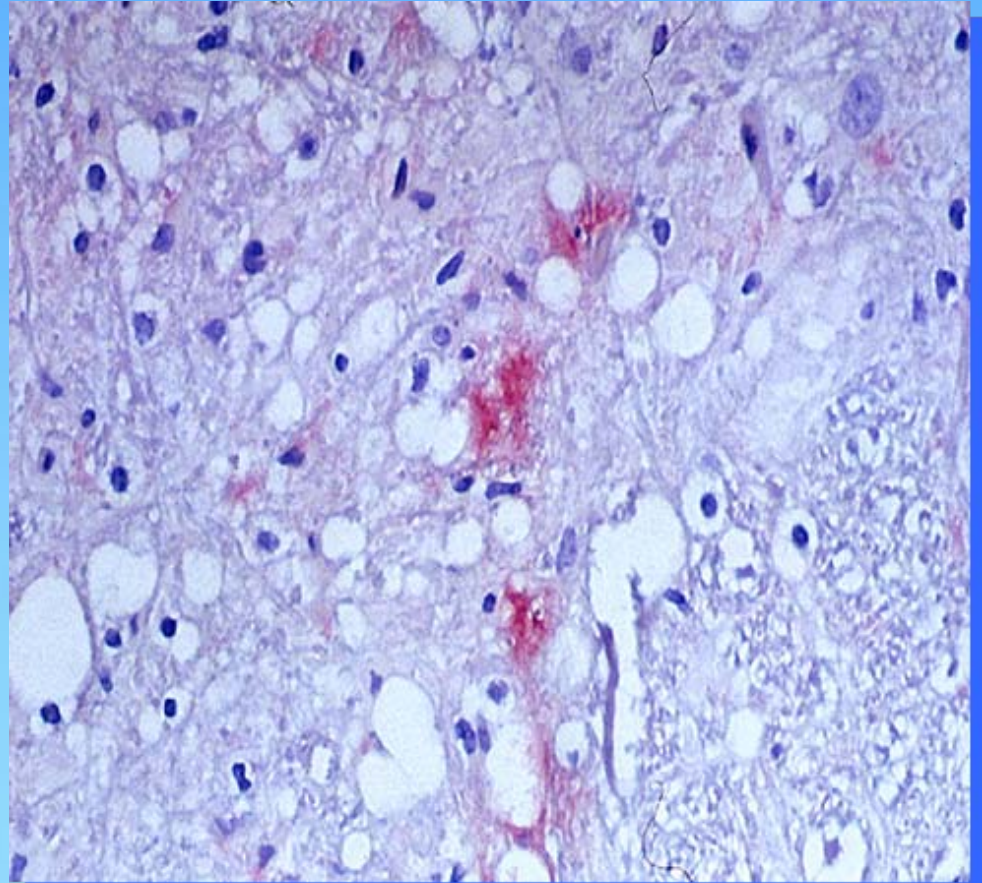
- Séparer en deux moitiés les ganglions.
- Congeler une moitié.
- Fixer l'autre moitié dans de la formaldéhyde à 10 %.



LES ÉPREUVES DISPONIBLES

Immunohistochimique (IHC)

- Technique d'immunofluorescence ou de révélation des antigènes intracellulaires par des anticorps marqués par des enzymes (peroxydase en général) pour détecter des molécules définies à l'intérieur de cellules fixées.

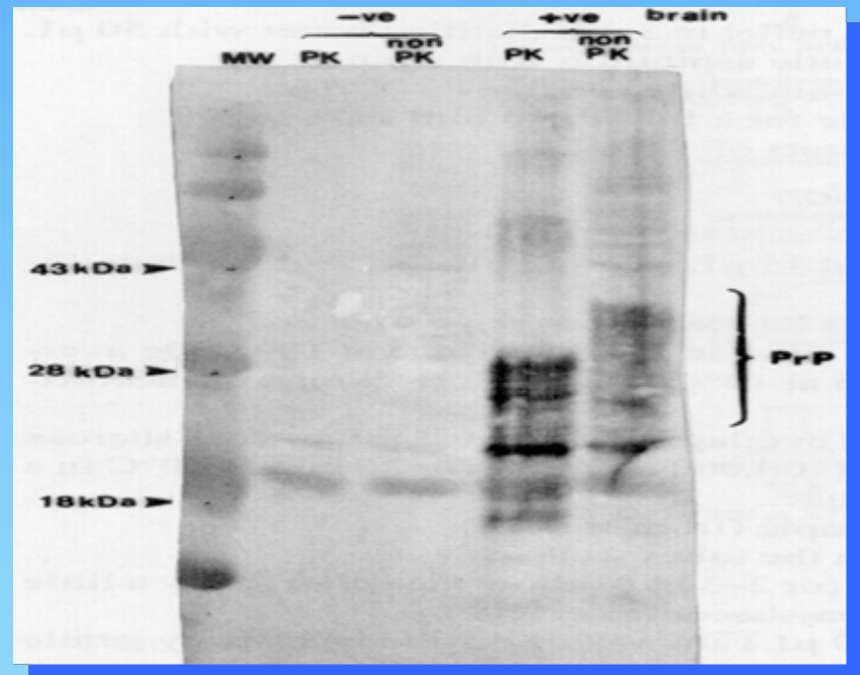


Immunohistochimique (IHC)

- Jusqu'ici, l'épreuve immunohistochimique (IHC) était la norme pour la détection de la maladie débilante chronique.
- Demeure nécessaire pour confirmation de la maladie dans le cadre du programme MDC
- Considérée comme la meilleure épreuve pour la détection de la maladie débilante chronique

Immunobuvardage (Western blot)

- Transfert de protéines séparées par électrophorèse sur un support approprié, généralement une membrane de nitrocellulose.



- Utilisé sur les échantillons autolysés lorsque l'analyse IHC s'avère impossible

ELISA

TeSeE[®] de Bio-Rad

- Détecte le prion dans les tissus non fixés.
- Bientôt utilisée pour la surveillance de la maladie débilante chronique chez tous les cervidés d'élevage dans le cadre du programme.
- Pour les échantillons autolysés, le Centre d'expertise de l'ACIA utilisera dorénavant l'épreuve Bio-Rad au lieu du transfert Western.

CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS

PRÉLEVÉS SUR LE TERRAIN SELON L'ÉPREUVE

IHC

BIO-RAD

& Western blot

Si un seul choix = CONGELER

Fixer dans le
formaldéhyde à 10 %

Conserver à l'état
frais, au froid; si le
transport jusqu'au
laboratoire est long, il
faut les congeler