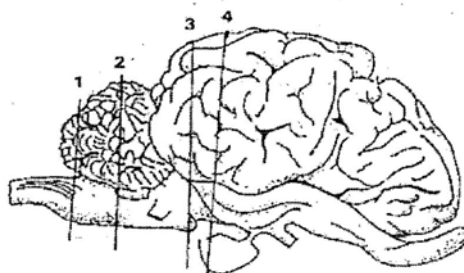
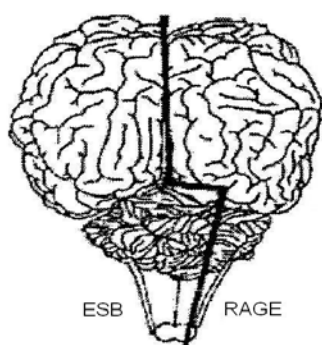


6.1 Annexe 1 - Techniques d'échantillonnage du cerveau

Cas suspects d'ESB et cas de surveillance de l'ESB qui sont en même temps soupçonnés d'avoir la rage :

Prélever et expédier le cerveau frais entier sectionné en deux comme ci-dessous. Le diagramme latéral illustre quatre zones critiques pour le diagnostic de l'ESB, les zones 1 et 2 étant les plus importantes.

Ne pas congeler ni fixer les échantillons dans le formaldéhyde.



Cas de surveillance de l'ESB si la rage n'est pas envisagée :

Prélever et soumettre le tronc cérébral frais, y compris l'obex (emplacement indiqué à la figure 1)

Ne pas congeler ni fixer les échantillons dans le formaldéhyde.

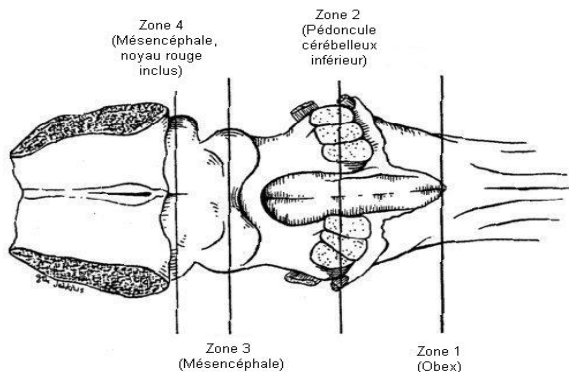


Figure 1



Protocoles de prélèvement du cerveau

La technique de prélèvement de l'encéphale entier, la technique de la spatule et la technique de rinçage sont toutes des méthodes qui conviennent pour le prélèvement d'échantillons aux fins du dépistage de l'ESB.

Technique de prélèvement de l'encéphale entier

1. Dans les cas où la rage ne peut être exclue, des échantillons de tissus devraient être soumis au dépistage à la fois de la rage et de l'ESB. Placer une toile de plastique jetable sous la tête de la carcasse. L'encéphale doit être retiré entièrement. Pour ce faire, utiliser une scie, un couteau et un ciseau. **NE PAS UTILISER UNE HACHE POUR OUVRIR LE CRÂNE.** Veiller à garder le tronc cérébral intact.
2. Séparer la tête de la carcasse au niveau de l'articulation occipitoatloïdienne et sectionner la moelle épinière.
3. Placer la tête désarticulée sur une table recouverte d'une toile de plastique jetable.
4. Retirer la peau du crâne et de la partie postérieure du museau, y compris la peau entourant les yeux.
5. Avec une scie de nécropsie, pratiquer une coupe allant d'un point tout juste derrière l'orbite oculaire jusqu'à un point similaire situé derrière l'autre orbite (figure 2). Cette coupe doit faire environ 2 cm de profondeur et être inclinée vers l'arrière.
6. Pratiquer deux autres coupes de chaque côté du crâne, du milieu du trou occipital parallèlement à ses côtés latéraux jusqu'à un point situé à 2 cm du bord de l'orbite en direction de la ligne médiane. Cette coupe doit être pratiquée à un angle de 45 degrés vers l'intérieur (figure 3).
7. Insérer un couteau robuste ou un ciseau dans la première coupe et soulever le dessus du crâne vers l'arrière. Veiller à empêcher les méninges de tirer des morceaux du cerveau, en particulier les méninges situées entre les hémisphères du cerveau et la portion antérieure du cervelet. Il est préférable d'utiliser des ciseaux plutôt qu'un couteau pour couper ces membranes.
8. Sectionner le pédoncule olfactif et soulever légèrement l'encéphale pour pouvoir couper le nerf optique. Dans cette position, il est possible de voir la tige pituitaire. La sectionner en laissant la glande pituitaire dans sa cavité osseuse.

9. Soulever délicatement l'encéphale vers le haut et l'arrière. Couper les racines des nerfs crâniens; cette opération libérera de la cavité crânienne l'encéphale et un segment de 4 cm de la moelle épinière cervicale.
10. Sectionner le cerveau (figure 1 ci-dessus) et le soumettre pour le dépistage de l'ESB et, s'il y a lieu, pour le dépistage de la rage.

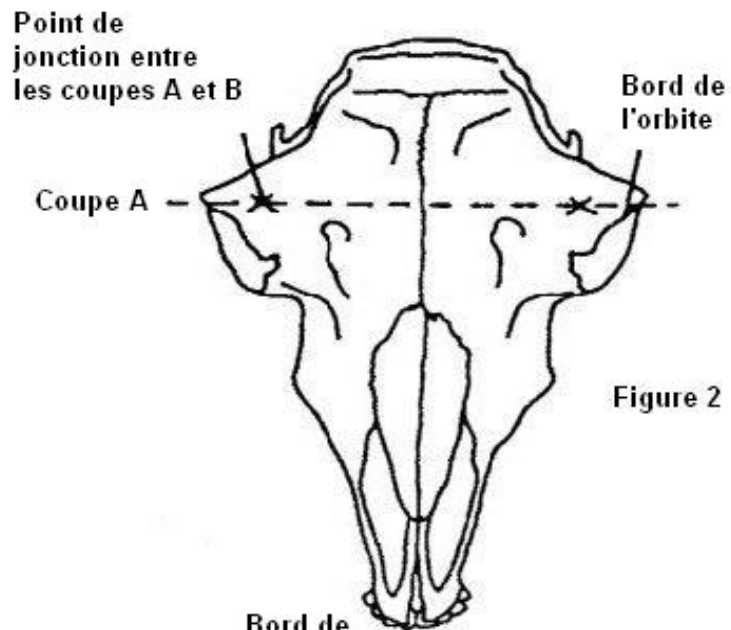


Figure 2

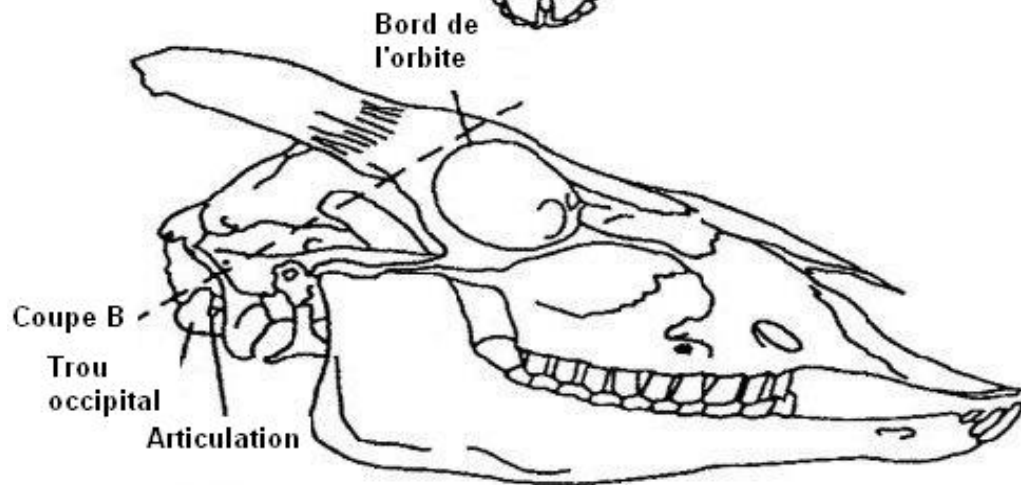


Figure 3

Technique de la spatule

11. À l'aide d'un couteau de nécropsie, désarticuler la tête de la carcasse au niveau de l'articulation occipitoatloïdienne.
12. Placer la tête désarticulée sur une table ou toute autre surface de travail convenable recouverte d'une toile de plastique jetable. Le côté dorsal doit être placé vers le bas, de façon que le trou occipital soit face à soi. À l'aide de ciseaux et d'une pince, retirer la dure-mère par l'ouverture du trou occipital de façon à exposer la medulla.
13. Par le trou occipital, insérer un couteau à cerveau dans le crâne en direction rostrale en faisant des mouvements de gauche à droite jusqu'à ce que la pointe du couteau touche l'os. Veiller à ce que la lame du couteau soit parallèle à la face dorsale du tronc cérébral, mais ventrale par rapport au cervelet. Faire tourner la lame du couteau et repousser délicatement le cervelet. Retirer le couteau.
14. Insérer la spatule dans le trou occipital, face orientée latéralement. Pousser la lame rostralement jusqu'à ce qu'environ les deux tiers de la tige soient dans le crâne (soit au niveau de la jonction entre le pons et le mésencéphale).
15. Tourner la lame ventralement, puis dorsalement pour séparer le tronc cérébral.
16. Saisir l'extrémité caudale du tronc cérébral à l'aide d'une pince à dents de souris. Retirer doucement la spatule et la pince dans le sens caudal pour enlever le tronc cérébral. Placer le tronc cérébral sur un essuie-tout dans le récipient primaire, en vue de l'expédier pour analyses.

Technique de la cuillère

17. Cette technique exige des ciseaux à dissection Mayo, une pince à dents de souris et une cuillère servant à retirer l'obex.
18. Placer la tête désarticulée sur une table ou toute autre surface de travail convenable recouverte d'une toile de plastique jetable. Le côté ventral doit être placé vers le bas, de façon que le trou occipital soit face à soi. À l'aide de la pince et des ciseaux, pratiquer une incision au centre de la dure-mère pour créer deux « rabats ».
19. Tenir la dure-mère avec la pince pour mettre à nu les nerfs crâniens sortant de la moelle épinière. Sectionner les nerfs crâniens de la moelle épinière. Il s'agit de l'étape cruciale de la technique de la cuillère visant à

dégager la moelle épinière et à retirer l'obex.

20. Insérer la cuillère, le dos vers le haut, dans le trou occipital et la pousser jusqu'à ce que sa pointe soit entre le cervelet et le tronc cérébral/moelle épinière. Appliquer une pression vers le bas sur la cuillère, tout en effectuant un mouvement de gauche à droite au-dessus de la moelle épinière pour la séparer du reste du cerveau.
21. À l'aide de la cuillère, tirer doucement sur la partie séparée du tronc cérébral/moelle épinière à travers le trou occipital. Placer le tronc cérébral sur un essuie-tout dans le récipient primaire en vue de l'expédier pour analyses.

Soumission d'échantillons de cas suspects d'ESB (négatifs à confirmer)

Remplir le formulaire *Soumission de spécimen pathologique - Usage domestique (CFIA/ACIA 1528)* du Système informatisé pour l'enregistrement et le suivi des analyses de laboratoire (SIESAL) pour chaque échantillon soumis. Dans la partie « Code motif du test » du formulaire, cocher la case indiquant la lutte contre les maladies. Indiquer si l'animal est un sujet cliniquement suspect ou s'il s'agit d'un traçage épidémiologique en aval ou en amont. Indiquer l'âge de l'animal et fournir une description des signes cliniques notés pendant son examen ante-mortem. Inclure la description de toute observation faite à la nécropsie.

L'emballage et l'expédition des échantillons prélevés sur des animaux appartenant à la catégorie « Échantillons pour l'ESB - négatifs à confirmer » doivent respecter les directives concernant les prélèvements diagnostiques UN 3373 établies par la Division des bio risques, du confinement et de la sécurité.

Les échantillons pour la rage doivent être emballés et expédiés conformément aux directives concernant les *substances infectieuses UN 2814*. Si un échantillon pour le dépistage de l'ESB est envoyé en même temps qu'un échantillon pour le dépistage de la rage, les deux échantillons doivent être expédiés conformément aux directives concernant les échantillons UN 2814.

Tous les échantillons négatifs à confirmer pour l'ESB doivent être expédiés au :

- Centre national des maladies animales exotiques
1015, rue Arlington
Winnipeg (Manitoba) R3E 3M4
Téléphone : 204-789-2001 Fax : 204-789-2038

Soumission d'échantillons pour la surveillance de l'ESB

Les échantillons provenant d'animaux faisant l'objet d'une surveillance de l'ESB peuvent être emballés et expédiés selon les directives applicables à l'*Envoi des spécimens biologiques - Non réglementés*.

Des échantillons peuvent provenir d'un animal qui est à la fois soupçonné de rage et faisant l'objet d'une surveillance de l'ESB. Pour permettre que le travail de diagnostic de ces deux maladies se fasse dans les meilleures conditions, veuillez sectionner le cerveau tel que décrit à la page 6.1-1. Les deux segments du cerveau doivent être expédiés à l'état frais.

Les échantillons pour la rage doivent être emballés et expédiés au laboratoire de l'ACIA pour la rage (Alberta ou Ottawa), selon les procédures prévues pour les *substances infectieuses UN2814*

Les échantillons prélevés à des fins de surveillance de l'ESB devraient être expédiés au laboratoire le plus proche figurant sur la liste qui suit. Indiquer clairement sur la formule CFIA/ACIA 1528 *Soumission de spécimen pathologique – Usage domestique*, qu'un échantillon provenant du même animal/même cerveau a été soumis pour détection de la rage. Ceci aura pour effet de prévenir le personnel du laboratoire du degré potentiel de bio risque et d'assurer que les échantillons soient manipulés comme il se doit.

- Institut de recherche sur les maladies animales
Agence canadienne d'inspection des aliments
3851 Fallowfield Road
Nepean (Ontario) K2H 8P9
- Laboratoire de Lethbridge
Agence canadienne d'inspection des aliments
Township Road 9-1
PO Box 640
Lethbridge (Alberta) T1J 3Z4
- Laboratoire de St-Hyacinthe
Agence canadienne d'inspection des aliments
3400, boul. Casavant ouest
St-Hyacinthe (Québec) J2S 8E3
- Centre national des maladies animales exotiques
Agence canadienne d'inspection des aliments
1015, rue Arlington
Winnipeg (Manitoba) R3E 3M4

6.2 Annexe 2 - Précautions sanitaires /Désinfectants

L'agent de l'ESB est considéré comme pathogène pour les humains. Des méthodes de travail sûres sont décrites dans le *Manuel des procédures communes, 1.6 Pratiques personnelles en matière de sécurité* (LIEN). Dans les exploitations à grande échelle, une personne devrait être désignée comme agent de sécurité pour s'assurer que les travailleurs respectent les normes en matière de sécurité au travail.

Il faut porter des vêtements de protection, des gants et un masque lorsqu'on prélève des échantillons de cerveau. Éviter tout contact direct avec des tissus cérébraux. Le personnel qui travaille dans les endroits où l'on fait la collecte de tissus devrait prendre des précautions pour éviter d'ingérer l'agent infectieux.

Il est conseillé de placer la tête de l'animal sur une toile de plastique jetable. La toile devrait être assez grande pour recouvrir entièrement le plan de travail.

Pour la décontamination chimique du matériel et des surfaces de travail, il est recommandé d'utiliser de l'hypochlorite de sodium (NaOCl) contenant 2 % de chlore actif ou une solution 2 M d'hydroxyde de sodium (NaOH). On devrait laisser les surfaces et le matériel en contact (ou imbibés) avec le NaOCl ou le NaOH pendant au moins une heure.

On devrait laisser tremper les instruments neurochirurgicaux dans le NaOH pendant une heure, les retirer de la solution et les essuyer avec un tissu imbibé de la solution de NaOCl pendant dix secondes. Essuyer les instruments car le NaOCl est corrosif.

- On peut acheter le NaOH de Fisher Scientific sous forme de cristaux. Pour obtenir une solution 2 M de NaOH, diluer 80 grammes de cristaux de NaOH dans un litre d'eau et bien mélanger.
- L'hypochlorite de sodium (NaOCl) peut être préparé à partir d'eau de Javel à usage industriel ou vendue dans le commerce (telle que Javex). Diluer l'eau de Javel afin d'obtenir une concentration finale de 2 % de chlore actif (20 000 ppm). Par exemple, la plupart des eaux de Javel vendues dans le commerce renferment, selon leur étiquette, 6 % de chlore actif. Dans ce cas, mélanger une partie d'eau de Javel pour deux parties d'eau (ratio 1:2) pour obtenir la concentration de chlore actif de 2 %. Les vêtements protecteurs et les gants jetables souillés, ainsi que les restes d'animaux devraient être enfouis ou incinérés.

Note : Les autres désinfectants classiques tels que le Virkon ne sont **pas** efficaces contre les prions. Les instruments doivent être désinfectés soit avec de l'hypochlorite de sodium ou de l'hydroxyde de sodium.

6.3 Annexe 3 - Questionnaire pour rapports par téléphone

LIGNE 1-866-400-4244 SURVEILLANCE DE L'ESB

QUESTIONNAIRE DE LA PERSONNE APPELÉE

PARTIE 1 :

À remplir par le réceptionniste ou le bureau du centre opérationnel qui reçoit l'appel -
La personne appelée explique que l'appel sera transféré au bureau de district
concerné (ACIA) et qu'un vétérinaire retournera l'appel le plus tôt possible.

Date :

Heure :

Nom de l'appelant :

Numéro de téléphone de l'appelant :

Bureau régional ou de district auquel l'appel a été transféré :

Nom de la personne-ressource au bureau régional ou de district :

Partie 1 remplie par : (nom de la personne appelée)

PARTIE 2 :

À remplir par le vétérinaire de district et/ou la première personne qui répond

ANTÉCÉDENTS DE L'ANIMAL :

- ÂGE
- NUMÉRO D'IDENTIFICATION
- MALADE COUCHÉ MOURANT MORT
- DATE ET HEURE DE LA MORT
- SYMPTÔMES OBSERVÉS, ÉVOLUTION DE LA MALADIE,
TRAITEMENT, HUMAINS EXPOSÉS
- VÉTÉRINAIRE PROVINCIAL OU PRIVÉ APPELÉ

BUREAU DE DISTRICT DE L'ACIA APPELÉ

ÉVALUATION VÉTÉRINAIRE PRÉLIMINAIRE :

- RAGE OU ESB SOUPÇONNÉE
- SATISFAIT AUX CRITÈRES DE SURVEILLANCE DE L'ESB
- NE SATISFAIT PAS AUX CRITÈRES DE SURVEILLANCE DE L'ESB

MESURES À PRENDRE :

- QUELQU'UN DU BUREAU DE DISTRICT DE L'ACIA DOIT SE RENDRE SUR LES LIEUX
- INFORMER LE PROPRIÉTAIRE QUE L'ANIMAL EST INADMISSIBLE À L'ÉCHANTILLONNAGE DE SURVEILLANCE

PARTIE 3 :

Cette partie sert à l'établissement des rapports. Les Opérations détermineront la nature des renseignements à consigner.

SUIVI à faire par le bureau de district

Échantillon prélevé : Oui Non

Date :

Positif Négatif

Renseignements sur le remboursement :

RENSEIGNEMENTS DU BUREAU :

Rempli par :

Date :

Annexe 4 - Euthanasie sans cruauté des bovins

L'euthanasie exige de rendre l'animal inconscient sans provoquer chez lui ni anxiété ni douleur avant l'arrêt de ses fonctions vitales. Il existe plusieurs techniques d'euthanasie qui peuvent être classées dans les catégories suivantes :

- Perturbation physique de l'activité cérébrale causée par la destruction directe des tissus cérébraux (coup de feu ou assommage au pistolet à cheville pénétrante, suivi d'une saignée ou autre technique susceptible de causer la mort).
- Dépression directe du système nerveux central par des médicaments (anesthésiques, barbituriques) qui provoquent la mort par hypoxie.
- Inconscience provoquée par des agents pharmaceutiques suivie de mécanismes qui provoquent l'hypoxie (utilisation de narcotiques et saignée).

La méthode utilisée doit :

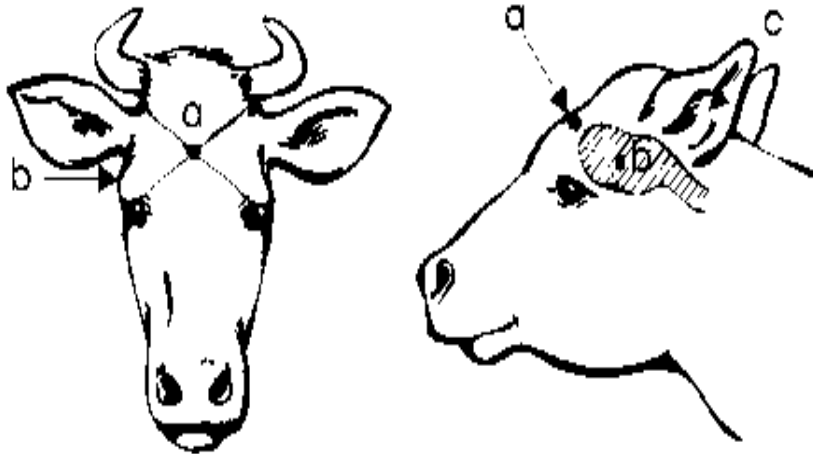
- être irréversible et provoquer un assommage et une mort rapide;
- provoquer la mort sans panique ni angoisse chez l'animal;
- être fiable chez un seul animal ou un grand nombre d'animaux;
- avoir un effet préjudiciable minime sur les travailleurs et les observateurs;
- tenir compte de la lutte contre les maladies (déversement de liquides organiques).

L'abattage sans cruauté des animaux exige beaucoup d'adresse de la part du travailleur.

<i>Méthode</i>	<i>Sécurité</i>	<i>Bien-être de l'animal</i>	<i>Habilité nécessaire</i>	<i>Coût</i>	<i>Apparences</i>	<i>Considérations diverses</i>
Coup de feu	Moyenne; la réglementation sur les armes à feu s'applique	Bon	Moyenne; choix de la cible déterminant	Faible une fois le matériel acheté	Passable; écoulement de sang et mouvements	On peut rester à une certaine distance de l'animal
Pistolet à cheville pénétrante	Moyenne	Bon	Moyenne; choix de la cible déterminant	Faible une fois le matériel acheté	Passable; écoulement de sang et mouvements	Il faut être en contact avec l'animal
Surdose de barbiturique	Bonne	Excellent	Moyenne; injections intraveineuses nécessaires	Élevé	Bon	Médicament à usage réservé au vétérinaire
Saignée	Passable	Bon; l'animal doit déjà être inconscient	Moyenne	Faible	Médiocre; Très sanglant	N'est pas la seule méthode d'euthanasie
Électrocution	Moyenne à faible	Bon; seulement avec un équipement spécial	Moyenne	Faible; achat initiale élevé	Passable; mouvements	Il faut une source d'électricité

Note : À remarquer que l'assommage par pistolet à cheville non pénétrante ne peut pas être utilisé chez les bovins à la ferme.

L'électrocution de bovins adultes est difficile à la ferme et n'est généralement pas recommandée.



Endroits choisis pour l'étourdissement de jeunes bovins et de bovins adultes par pistolet percuteur ou fusil

- a) méthode frontale : intersection de deux lignes tirées entre le canthus interne de l'oeil et la base de la corne opposée (ou juste au-dessus de la base de l'oreille).
- b) méthode temporale (arme à feu seulement) : à mi-chemin entre l'oeil et la base de l'oreille sur le même côté, la balle pénétrant horizontalement par le côté.
- c) par le dessus de la tête : possible chez les jeunes animaux, mais non recommandée.

Ne pas oublier : l'utilisation d'un pistolet à cheville pénétrante ou d'une arme à feu seulement n'entraîne PAS à coup sûr la mort de l'animal.

Fusil : très efficace et, si utilisé correctement, plus sûr qu'une carabine ou un pistolet. Placer le museau à une distance de 5 à 25 cm de la cible. Utiliser des plombs n° 4, 5 ou 6. Si le fusil est de petit calibre (p. ex. .410), utiliser une cartouche puissante (p. ex. magnum 3 po.).

Le coup pénètre en une masse compacte à grande vitesse, puis les plombs se dispersent une fois dans le crâne. L'orifice à l'entrée dans le crâne est relativement petit, mais la destruction du cerveau est massive. Les dommages entraînent la mort de l'animal.

Il y a peu de chance que des plombs ressortent de la carcasse (méthode plus sûre qu'avec une balle unique).

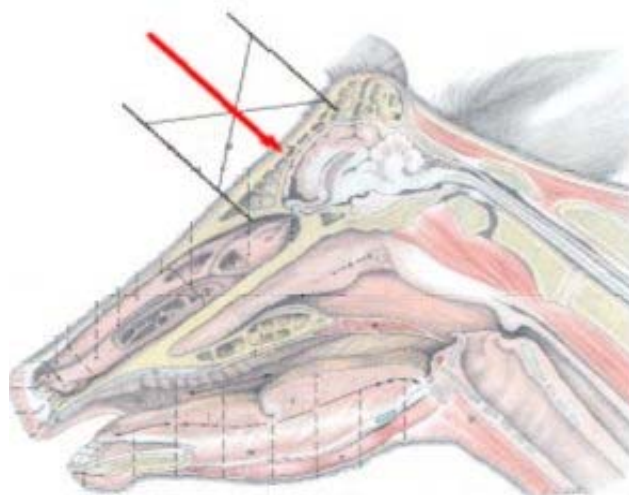
Signes d'un assommage efficace :

- l'animal s'effondre et devient rigide;
- l'animal ne respire plus régulièrement;
- l'animal ne présente plus de réflexe cornéen et ses yeux sont fixes et brillants.

Le premier signe d'un assommage inefficace est le retour de la respiration rythmique!

Note : Je recommande le recours à la décérébration (aussi appelée jonchage, ou <<pithing>> en anglais) comme méthode courante d'euthanasie (sur une grande échelle) de bovins, d'ovins et de porcins immédiatement après l'assommage. Cette méthode s'est révélée efficace et répond aux exigences en matière d'abattage sans cruauté des animaux en Union Européenne, mais on ne l'a pas encore envisagée au Canada. Les carcasses de ruminants soumises à la décérébration sont considérées comme impropres à la consommation humaine.

Le Comité sur le bien-être des animaux de l'ACMV devrait bientôt prendre position au sujet de la décérébration



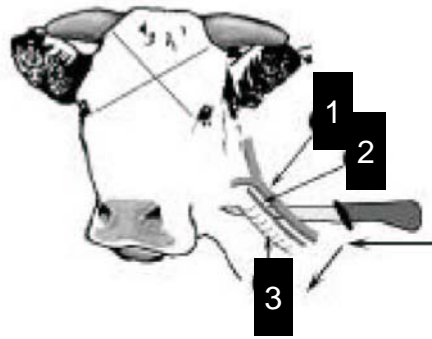
Note sur la qualité des échantillons pour le dépistage de l'ESB :

Ni le transfert de Western ni l'essai rapide par ELISA ne sont influencés par la destruction provenant d'un assommage par coup de feu ou par pistolet à cheville pénétrante. La cheville percutante pénètre à environ 8 cm de profondeur. Lorsque le pistolet est placé et orienté correctement, le projectile ne pénètre pas assez profondément pour causer une destruction de l'obex et du tronc cérébral propre à rendre l'échantillon inutilisable.

L'utilisation similaire d'une arme à feu par la méthode frontale ou par la méthode temporale (la balle sortant par la tempe opposée) est également peu susceptible de causer une destruction suffisante de l'obex pour rendre l'échantillon inutilisable.

Et le pistolet à cheville pénétrante, et le fusil causent une hémorragie qui exige un certain <<nettoyage>> de l'échantillon au laboratoire.

Les plombs de fusil causent une destruction massive du cerveau et sont susceptibles de détruire également les tissus du tronc cérébral.



Saignée :

Utiliser un couteau à lame pointue rigide et bien aiguisée d'au moins 15 cm. Planter la pointe du couteau dans le cou juste sous la colonne vertébrale et pousser dans un mouvement vers le bas pour trancher

- 1) la veine jugulaire externe
- 2) l'artère carotide
- 3) la trachée.

Sources :

Practical Euthanasia of Cattle, Animal Welfare Committee of the American Association of Bovine Practitioners

Getting it right, DEFRA, 2003

Communication personnelle, Laboratoire de Winnipeg, ACIA - Maladies animales exotiques (Arlington).