

Maisons-Alfort, 5 December 2007

LA DIRECTRICE GÉNÉRALE

OPINION

of the French Food Safety Agency (Afssa) on the assessment of the diagnostic sensitivity of rapid tests conducted in small ruminant animals on an obex sample

Context of the request:

In a letter dated 9 November 2007, Afssa requested the TSE Scientific Panel to issue an opinion in addition to Afssa's opinion of 15 January 2007¹, with a view to assessing the diagnostic sensitivity of rapid tests conducted in small ruminant animals on an obex sample.

Examination of the question raised and background of the request:

The request formulated in the letter of 9 November 2007 stated:

“During a SCFCAH vote (24 April 2007), France opposed the application of certain points in Commission Regulation (EC) No 727/2007² referring in particular to Afssa's opinion of 15 January 2007, which considers that the European Commission's proposals concerning classical scrapie would pose additional risk compared with the measures currently in force, for both public and animal health. Some of the points highlighted in Afssa's opinion are:

- that the diagnostic sensitivity of the tests currently used to distinguish between BSE and scrapie is unknown and cannot be considered absolute;*
- that the very wide diversity of TSE strains grouped under the term “scrapie” in small ruminant animals and the little knowledge acquired on them mean that the fact that some of them might pose a risk for human health cannot be excluded.”*

Under such conditions, the TSE Scientific Panel believes that releasing carrier animals of sensitive genotypes in view of human consumption, subject to a negative result from a rapid test (for animals aged over 18 months), poses too high a risk compared with the previous situation. This is because the imperfect diagnostic sensitivity of rapid tests conducted on an obex sample would release animals containing large

¹ Opinion of 15 January 2007 on changes in the animal health measures applied in sheep and goat populations where a case of classical or atypical scrapie has been detected.

² Commission Regulation (EC) No 727/2007 of 26 June 2007 amending Annexes I, III, VII and X of Regulation (EC) No 999/2001 of the European Parliament and of the Council laying down rules for the prevention, control and eradication of certain TSEs.

amounts of infectious matter in their peripheral lymphoid tissues into the human food chain.

“Following this vote, France has undertaken avoidance action together with a stay of execution through summary proceedings at the Clerk’s Office of the European Court of First Instance.

Since the arbitration of the CFI judge is in favour of France’s request, the targeted animal health measures have been suspended pending a judgment on the merits.

One of the key arguments in the French file concerns the ability of screening programmes to detect infected animals in affected herds and refers in particular to Afssa’s opinion of 13 June 2007³ which states: “on the basis of data gathered in France, it is currently held that with obex tests only detecting around 50% of infected animals in affected herds, the other 50% corresponding to animals at the contagious stage that are carrying infectivity in their lymphoid tissues (...), in 2006, at least 1000 carcasses (sheep and goats) carrying significant amounts of infectivity in their lymphoid tissues would have been apparently released for human consumption.”

In order to consolidate the French standpoint, Afssa wanted the TSE Scientific Panel to provide an additional opinion stating what data are available on the proportion of infected animals actually detected by the tests conducted on a sample of brain stem (obex) under the current monitoring programmes”

Argument:

The TSE Scientific Panel, which was asked this question, issued the following opinion, validated electronically:

“In its opinion of 13 June 2007, the Panel used the French data it had at the time (see detail below) to assess the sensitivity of diagnostic tests conducted on an obex sample. In order to go further in its analysis, the working group on the epidemiology of animal TSE carried out a bibliographical review of all the studies published in which PrPres had been investigated in both the central nervous system and some peripheral lymphoid tissues of small ruminant animals. This bibliographical review is appended to this opinion.

For each of these studies, the diagnostic sensitivity of the tests on a brain sample was estimated (Table 1 in the annex) by dividing the number of animals producing a positive result on a brain sample by the total number of animals producing a positive result on at least one of the tissues tested with at least one of the methods used in the study.

This estimation raises the following comments:

- the studies mentioned are based solely on the search for the pathological prion protein; no experimental inoculation tests were carried out in any of them to detect the presence and quantity of infectious agent responsible for scrapie;

³ Afssa’s opinion of 13 June 2007 on a request for an additional opinion on the animal health measures in sheep and goat populations in which a case of classical scrapie has been detected.

- as a result, it is possible that animals in the early stages of infection are not detected by the tests, including by tests conducted on peripheral lymphoid formations, even though they are infectivity carriers. This period varies depending on the genotypes and strains. The ability of a test on obex to detect an infected animal is therefore variable depending on the genotype and age of the slaughtered animals and prion strain;

- to conclude, the diagnostic sensitivities calculated in Table 1 are therefore overestimated since they do not take account of the infected animals that are not detected by any of the tests carried out.

The analysis conducted by the WG showed that:

- for sheep carrying so-called 'sensitive' genotypes to classical scrapie (VRQ/VRQ, ARQ/VRQ, ARQ/ARQ), large amounts of PrPres accumulate in the peripheral lymphoid tissues several months before invading the central nervous system. However, in some animals (particularly those of genotype ARR/xxx), clinical signs were reported without PrPres being detected in the lymphoid tissues. The few data available to date seem to indicate that a similar situation to that of ARR/XXX sheep could be encountered in cases of atypical scrapie.

- none of the studies considered were initially designed to assess the diagnostic sensitivity of rapid tests on obex. The data are disparate and often concern low numbers of animals. The extreme variability of methods for sampling the groups of animals studied (breed, distribution of PrP genotypes, TSE strain, clinical cases/all animals or sensitive animals) introduced significant bias for calculating a diagnostic sensitivity. Accordingly, for example, some studies apply to groups of clinically affected sheep (Langeveld *et al.*; 2006, Ligios *et al.*, 2006, Jeffrey *et al.*, 2002, Monleon *et al.*, 2005) or to selected animals on the basis of a positive result to a rapid test conducted on an obex sample. This method of recruitment leads to an overestimation of the diagnostic sensitivity of tests on obex. On the contrary, other studies focus solely on animals of sensitive genotypes (Langeveld *et al.*, 2006⁴, Reckzeh *et al.*, 2007), which fosters early detection of PrPres in the lymphoid tissues. With these reservations expressed, it appears that the diagnostic sensitivity of tests conducted on obex can vary in these studies from 100% (Jeffrey *et al.*, 2002) to 23.5% (Langeveld *et al.*, 2006).

The French study (Andréoletti *et al.*, 2005) concerns the most animals (2661 goats). Within the herds affected with natural scrapie studied, no animal selection was made on clinical or genotype criteria (no evident bias of recruitment). Out of this population, the sensitivity of rapid tests on obex (conducted in the framework of official screening by accredited *Départemental* Veterinary Laboratories) was 47.2% (value adopted by the Panel to illustrate its opinion of 13 June 2007).

The detection sensitivity on obex increases to 62.4% when the detection on obex is carried out by a research laboratory using the most sensitive detection tools currently

⁴ In this article by Langeveld *et al.* (2006), analyses were conducted both on a panel of clinically affected animals or which were selected on the basis of a positive test on obex (diagnostic sensitivity 98.3%) and on a cohort of VRQ/VRQ animals in an infected herd (diagnostic sensitivity 23.5 %).

available (particularly improved rapid tests with optimal sensitivity – immunohistochemical tools).

Conclusions and recommendations:

The study conducted by the epidemiology WG and the analysis that the Panel carried out on this confirm the imperfect diagnostic sensitivity of rapid tests conducted on an obex sample. These tests cannot detect a significant proportion of infected animals in a herd affected with classical scrapie (up to 76.5%, according to the article by Langeveld *et al.*, 2006, diagnostic sensitivity of 23.5%). This study highlights the difficulty in interpreting the data currently available in the literature, and their limits. The Panel is in total agreement that, depending on the situation (genetic structures of affected herds, prion strain, development mode of the infection in the herd), the diagnostic sensitivity of the tests on obex can vary significantly. The fact remains that the value (estimated to be 50%) adopted in the opinion of 13 June 2007, although it only represents an "order of magnitude", is still perfectly representative and, as a result, the analysis of the data obtained from the literature by the epidemiology WG does not cast doubt on the conclusions from the opinions of 15 January 2007 and 13 June 2007.

Main bibliographical references: see annex

Key words: TSE, rapid tests, small ruminant animals

ANNEXE

Rapport du groupe de travail sur la comparaison de la sensibilité diagnostique des tests rapides sur l'obex et l'utilisation des organes lymphoïdes pour la détection des petits ruminants infectés par un agent d'une ESST.

METHODE : l'analyse s'appuie sur des études publiées ou en cours de publication.

Afin d'évaluer la sensibilité diagnostique des tests réalisés sur obex et des tests réalisés sur organes lymphoïdes, plusieurs types de données peuvent être mobilisées :

- Les données issues d'études sur la cinétique de distribution de l'agent infectieux dans l'organisme, et des marqueurs de l'infection. Les résultats sont basés sur des contaminations naturelles ou expérimentales.
- Les données issues d'études épidémiologiques. Les résultats sont basés sur l'examen de différents tissus (système nerveux central et organes lymphoïdes) recueillis sur des animaux éliminés à l'équarrissage dans le cadre des mesures de police sanitaire.

1 - Données de physiopathologie

De nombreux éléments du schéma de dissémination de l'agent infectieux des ESST dans l'organisme sont à présent établis. Ce schéma de dissémination est fortement dépendant du modèle animal (modèle rongeur ou hôte naturel), de l'isolat (tremblante classique, atypique, ESB, nv-MCJ, ou CWD), de la dose de l'inoculum, et de la voie d'inoculation utilisée (voie orale, intrapéritonéale, sous-cutanée ou intracérébrale), ainsi que de certaines caractéristiques de l'hôte (génotype PRP en particulier chez les ovins). Cependant, plusieurs phases caractéristiques semblent communes aux différentes entités pathologiques et espèces cibles. Les observations réalisées sur des ovins naturellement infectés (Andreoletti *et al.*, 2000, Ersdal *et al.*, 2003, Heggebo *et al.*, 2003, Heggebo *et al.*, 2002, Heggebo *et al.*, 2000, van Keulen *et al.*, 1996, van Keulen *et al.*, 1999, van Keulen *et al.*, 2002), ou des patients atteints de v-MCJ (Bruce *et al.*, 2001), ainsi que les résultats obtenus sur divers modèles expérimentaux rongeurs (Beekes & McBride, 2000, Kimberlin & Walker, 1989, Maignien *et al.*, 1999), bovins (Terry *et al.*, 2003, Wells *et al.*, 1994, Wells *et al.*, 2005), ovins (Bellworthy *et al.*, 2005, Ersdal *et al.*, 2005, Jeffrey *et al.*, 2001) ou chez les cervidés sauvages (Sigurdson *et al.*, 1999) permettent de distinguer :

1. une phase de lympho-invasion, qui ne semble pas indispensable à l'infection mais la favorise. Cette phase se caractérise par une contamination précoce des structures lymphoïdes du tube digestif (GALT, Gut Associated Lymphoid Tissue) puis des nœuds lymphatiques associés et conduit progressivement à l'accumulation de PrPres dans toutes les formations lymphoïdes secondaires,
2. une phase de neuro-invasion au cours de laquelle de la PrPres va s'accumuler d'abord dans les neurones du système nerveux autonome périphérique associé au tube digestif (ENS, Enteric Nervous System), puis dans ceux du système nerveux central.
3. une phase de dissémination centrifuge, à partir du système nerveux central, vers des structures périphériques telles que le tissu musculaire.

La dissémination dans le système sanguin, retrouvée dans les modèles expérimentaux murins (Brown *et al.*, 1998, Diringier, 1984) ou ovins (Houston *et al.*, 2002, Houston *et al.*, 2000) semble pouvoir avoir lieu précocement dans la phase préclinique de la maladie (van Keulen *et al.*, 2002).

Chez les ovins, plus spécifiquement, les données les plus intéressantes sont fournies par l'abattage séquentiel à différents âges de groupes d'animaux naturellement contaminés issus de troupeaux fortement infectés. Chez des agneaux VRQ/VRQ, de la PrPres est mise en évidence par immunohistochimie (IHC) dans les plaques de Peyer iléales, le nœud lymphatique iléal et les amygdales de manière inconstante dès l'âge de 2 mois et de manière systématique dans la plupart des organes lymphoïdes à 3-4 mois d'âge (Andreoletti *et al.*, 2000, van Keulen *et al.*, 2002). Dans ces deux études les premiers dépôts de PrPres dans l'ENS étaient mis en évidence chez les agneaux abattus à 9 et 10 mois.

A cet âge le système nerveux central (noyau dorsal du nerf vague et colonne intermédiolatérale de la moelle épinière thoracique) fournit des résultats inconstants. L'atteinte du système nerveux central n'est bien établie qu'à partir de 14 à 17 mois. A partir des mêmes animaux, la détection par Western Blot de la PrPres dans l'encéphale est plus tardive que par IHC et ne fournit des résultats positifs qu'à partir de l'âge de 17 mois alors qu'il n'y pas de différence pour le nœud lymphatique rétropharyngien (Langeveld *et al.*, 2006). Signalons que dans ces études les durées d'incubation sont relativement courtes, les signes cliniques apparaissant à l'âge de 18 mois dans l'étude d'Andréoletti *et al.* (2000) et 26 mois dans celle de Van Keulen *et al.* (2002). Des résultats semblables sont obtenus lors d'inoculation orale avec de la tremblante classique (Ersdal *et al.*, 2005). Dans cette étude, des agneaux ARQ/VRQ et VRQ/VRQ de race Rygja et âgés de 46 à 61 jours sont inoculés par voie orale avec 15 ml d'un homogénat à 30% de 5 grammes d'encéphale d'ovins VRQ/VRQ ou ARQ/VRQ positifs. Chez un agneau ARQ/VRQ sacrifié 157 jours post-inoculation, une accumulation de PrPres est mise en évidence par IHC dans le nœud lymphatique rétropharyngien, les plaques de Peyer iléales et le nœud lymphatique iléal, alors que l'encéphale reste négatif. Chez les animaux VRQ/VRQ sacrifiés à 322 jours post inoculation, l'accumulation de PrPres dans l'obex est très réduite alors que les organes lymphoïdes sont fortement positifs. Autour de 440 jours post inoculation, une accumulation de PrPres de plus en plus marquée et étendue est observée dans les segments thoraciques de la moelle épinière, mais reste modérée dans l'encéphale.

En matière d'ESB, lors d'inoculation orale d'ovins Rommey ARQ/ARQ avec 5 grammes d'encéphale de bovin atteint d'ESB, la mise en évidence de PrPres dans le tissu lymphoïde est moins précoce (inconstante à 4 mois et marquée à partir de 16 et 22 mois) mais précède l'atteinte du système nerveux central (inconstante à 16 mois et marquée à 22 mois) (Jeffrey *et al.*, 2001 ; Bellworthy *et al.*, 2005). Sur ces mêmes ovins, l'utilisation de bio-essais sur souris RIII permet de mettre en évidence de l'infectiosité à partir des plaques de Peyer iléales et de la rate respectivement dès 4 et 10 mois post-inoculation (Bellworthy *et al.*, 2005).

Ce schéma connaît cependant des exceptions. Un certain nombre d'études rapportent l'absence de détection de PrPres dans les organes lymphoïdes d'ovins hétérozygotes ARR/VRQ cliniquement atteints ou en phase d'incubation (Jeffrey *et al.*, 2002, Langeveld *et al.*, 2006, van Keulen *et al.*, 1996, Ersdal *et al.*, 2005). Cependant, dans la majorité des cas, de la PrPres est retrouvée dans l'ENS associé à l'iléon de ces animaux. Des observations similaires sont rapportées chez des ovins de génotype pleinement sensible ARQ/VRQ ARQ/ARQ (Jeffrey *et al.*, 2002, Ligios *et al.*, 2006, Monleon *et al.*, 2005, Vascellari *et al.*, 2005).

Un phénomène semblable pourrait exister chez les animaux atteints de tremblante atypique (ou Nor98), quel que soit leur génotype. A ce stade, la PrPres n'a jamais été mise en évidence dans les organes lymphoïdes des animaux atteints, mais les données disponibles sont trop peu nombreuses pour conclure (Benestad *et al.*, 2003, Simmons *et al.*, 2007).

En résumé, il semble donc que l'existence d'une répllication lymphoïde primaire dépende à la fois de la souche de prion et du fond génétique de l'hôte.

2 - Données épidémiologiques

Peu d'études ont été menées dans le but d'évaluer la sensibilité diagnostique de différents tissus dont le système nerveux central et les organes lymphoïdes. D'autres résultats peuvent cependant être mobilisés et concernent la distribution de la PrPres dans les différents organes chez des ovins éliminés à l'abattoir dans le cadre des mesures de police sanitaire. Dans beaucoup d'études, le calcul de la sensibilité diagnostique des différents tissus n'est pas possible en raison de la structure du schéma d'étude ou de données publiées incomplètes. Dans d'autres cas, l'échantillon d'animaux positifs est trop faible pour que la comparaison des résultats, en termes statistiques, soit pertinente.

Les résultats apparaissent contradictoires, certaines études concluant à une sensibilité diagnostique supérieure des analyses réalisées sur organes lymphoïdes par rapport à l'obex, d'autres concluant à une sensibilité équivalente, voire inférieure.

Dans une étude portant sur 62 cas cliniques ou en phase préclinique avancée (Langeveld *et al.*, 2006), l'analyse par Western-Blot ou IHC du nœud lymphatique rétropharyngien fournissait un résultat positif chez tous les animaux de génotype ARQ/VRQ (32/32), VRQ/VRQ (6/6) ou ARH/VRQ (7/7). Cinq (par WB) et 6 (par IHC) des 7 animaux ARQ/ARQ et seulement 1 (par WB) et 2 (par IHC) des 9 animaux ARR/VRQ étaient détectés à partir de ce tissu. Un seul animal ARQ/VRQ, âgé de 65 mois et en phase préclinique présentait de la PrPres dans le nœud lymphatique rétropharyngien en l'absence de positivité de l'encéphale. La sensibilité du diagnostic sur le nœud lymphatique rétropharyngien dans cette étude était de 87,1 % (IC 95% = 75.8 - 94.16) par IHC et de 83.9 % (IC 95% = 70.5 - 90.8) par WB. Celle de diagnostic sur l'obex était de 98,3 % ((IC 95% = 91.3 – 100.0). Dans cette étude, le défaut de sensibilité du diagnostic sur le nœud lymphatique rétropharyngien est expliqué par les animaux infectés de génotype ARR/VRQ dont on sait qu'ils accumulent peu de PrPres dans le système lymphoïde.

Dans la même étude, sur une cohorte de 18 ovins de génotype VRQ/VRQ, âgés de 2 à 26 mois, la sensibilité diagnostique des tests sur encéphale n'est que de 47% (8 animaux positifs sur 17 infectés) par IHC et de 23,5 % (4 positifs sur 17 infectés) par WB.

En Sardaigne (Ligios *et al.*, 2006), les investigations par IHC ou Western-Blot (test Prionics AG modifié) à partir de l'obex, des amygdales et du nœud lymphatique rétropharyngien de 1050 ovins asymptomatiques issus de 8 troupeaux infectés, a permis de détecter 69 cas positifs, dont 60 ARQ/ARQ, 7 ARQ/AHQ et 1 AHQ/AHQ. L'obex fournissait un résultat positif par les deux méthodes sur 60 de ces animaux. Dans 18 cas, l'amygdale et le nœud lymphatique rétropharyngien étaient négatifs alors que l'obex était faiblement positif. Calculée sur les 69 cas détectés, la sensibilité diagnostique à partir de l'obex était de 86.9 % (IC95% = 76.68 – 93.86) et celle à partir du tissu lymphoïde de 73.4 % (IC95% = 61.94 – 83.75).

A l'inverse dans une étude allemande (Reckzeh *et al.*, 2007), l'analyse par IHC sur grand nombre de structures nerveuses et lymphoïdes périphériques a permis de détecter 13 cas supplémentaires (13/53 = 24.5%) par rapport aux résultats fournis par les tests rapides (ELISA TeSeE Biorad) réalisés sur l'obex. Ces 13 ovins étaient âgés de 1 an à plus de 4 ans et de génotype ARQ/ARQ ou AHQ/AHQ. Aucun tissu ne permettait de détecter la totalité de ces animaux infectés : au mieux, 9 des ces 13 animaux étaient positifs à partir de l'amygdale ou du nœud lymphatique rétropharyngien. Seul les résultats combinés du nœud lymphatique mésentérique et de l'amygdale (ou du nœud lymphatique rétropharyngien) fournissaient un résultat positif sur les 13 animaux. La sensibilité du diagnostic à partir des différents organes ne peut être calculée car les 40 cas détectés par les tests rapides n'ont pas fait l'objet d'autres analyses.

De même, dans 2 troupeaux Suffolk, sur 80 ovins éliminés à l'équarrissage (Caplazi *et al.*, 2004), 13 étaient positifs par IHC à partir du nœud lymphatique mésentérique, de l'amygdale et du nœud lymphatique rétropharyngien. L'analyse de l'encéphale ne permettait d'en détecter que 10. L'analyse des organes lymphoïdes a donc permis de détecter 23% de cas supplémentaires par rapport à l'analyse de l'encéphale (3/13). Les autres organes lymphoïdes présentaient une sensibilité diagnostique équivalente. Dans une autre étude, menée en Norvège sur un troupeau de 49 ovins de race Rygia (Ersdal *et al.*, 2003), l'analyse par IHC de l'obex et du nœud lymphatique rétropharyngien prélevés sur des animaux en phase préclinique lors de l'abattage total a permis de détecter 17 cas positifs. Pour 3 de ces animaux, l'un âgé de 15 mois et les deux autres de 2 ans, l'analyse de l'encéphale donnait un résultat négatif. L'analyse des organes lymphoïdes a donc permis de détecter 17% de cas supplémentaires par rapport à l'analyse de l'encéphale (3/17).

Les investigations menées lors de l'abattage total de 2 troupeaux infectés en Italie (Vascellari *et al.*, 2005) a permis de détecter 32 animaux positifs de plus de 18 mois, de génotype ARQ/AHQ, ARQ/ARQ, ARQ/VRQ et VRQ/VRQ. L'obex fournissait un résultat positif sur 24 d'entre eux par Western Blot (Prionics Check) et sur 28 par IHC. De la PrPres était mise en évidence dans l'amygdale et/ou le nœud lymphatique rétropharyngien dans 29 sur 32 des cas.

Dans ces différentes études, les échantillons d'animaux positifs analysés sont petits et ne permettent pas d'établir avec précision la sensibilité relative du diagnostic sur le système lymphoïde par rapport à celui réalisé sur l'obex.

Après la confirmation de 4 cas cliniques, les 222 ovins de race Latxa d'une troupeau du Pays basque Espagnol (Gomez *et al.*, 2007), ont fait l'objet d'une recherche de PrPres par 4 tests rapides différents (Biorad Platelia, Enfer TSE Kit, Prionics Check LIA et Prionics Check WB) à partir de l'obex, du ganglion trigéminal (noyau du nerf crânien V, appartenant au SNC) des amygdales, de la 3^e paupière et du nœud lymphatique rétropharyngien. Au total, 18 cas positifs ont été détectés à partir de l'obex. Sur 32 ovins négatifs à partir de l'obex et sélectionnés aléatoirement, 8 autres, soit 25%, se sont révélés positifs à partir des autres tissus prélevés. Tous les animaux positifs à partir de l'obex (n=18) étaient positifs à partir de l'amygdale (17 positifs sur 17 testés), mais dans une moindre mesure à partir de la 3^e paupière (6 positifs sur 10 testés) ou du nœud lymphatique rétropharyngien (5 positifs sur 9 testés). Notons que sur un total de 26 animaux détectés positifs, le diagnostic porté à partir de l'amygdale avait la meilleure sensibilité (24 positifs sur 25 testés). De plus 6 ovins donnaient des résultats négatifs par l'utilisation des 4 tests rapides à partir de tous les tissus analysés et n'étaient détectables que par IHC.

L'étude la plus complète, en cours de publication, porte sur les caprins (Andreoletti *et al.*, 2005). Dans cette étude, l'encéphale, l'iléon, les amygdales et le nœud lymphatique iléal ont été prélevés sur 2658 chèvres de plus de 6 mois issues de 11 élevages abattus en totalité. Les échantillons ont été traités par IHC et ELISA (Biorad Sheep and Goat). La positivité d'un animal a été définie par l'obtention d'un résultat positif sur au moins un des organes testés par l'une ou l'autre des deux techniques. Sur un total de 181 caprins ainsi détectés positifs, 68 étaient négatifs à partir de l'obex par IHC et ELISA. Dans cette étude, l'analyse sur obex n'a donc permis de ne détecter que 62.4% des animaux positifs (113/181). Sur l'ensemble des organes testés, les résultats obtenus par ELISA et IHC étaient très comparables. La meilleure sensibilité diagnostique était obtenue lorsque le nœud lymphatique iléal (NLI) ou l'amygdale étaient utilisés : sensibilité de l'IHC sur amygdale 93.1% [88.3-96.4] ; de l'ELISA sur amygdale 94.9 % [90.6 – 97.7] ; de l'IHC sur NLI : 93.0 % [88.1 – 96.3] et de l'ELISA sur NLI 95.0 % [90.7 – 97.7]. En revanche l'analyse sur obex, que ce soit par IHC ou ELISA, ne présentait qu'une faible sensibilité : 58.4 % par IHC [IC95% = 50.7- 65.8] et 57.8 % [IC95% = 50.1- 65.3] par ELISA. Aucun animal ne présentait de PrPres uniquement dans l'encéphale. L'analyse réalisée à la fois sur l'amygdale et le nœud lymphatique iléale conduisait à une sensibilité de 100 %. Notons par ailleurs que parmi les animaux détectés positifs et issus de 8 troupeaux dont le cas index était atteint par de la tremblante classique, 165 chèvres ont fait l'objet d'un test rapide à partir d'un prélèvement d'obex par les Laboratoires Vétérinaires Départementaux dans le cadre des mesures officielles de police sanitaire (60 ELISA Sheep and Goat et TeSe Biorad, et 68 WB Check Prionics, 37 LIA Check Prionics). Les résultats indiquent que 87 (52.73 %) ont été considérées comme négatives. Dans ce cadre, la sensibilité des tests rapides sur obex était de 47.27 % [intervalle de confiance exact à 95 % : 33.46 - 55.12].

Eléments de synthèse :

- Les données de plus en plus précises sur la pathogénie de la tremblante classique indiquent clairement un envahissement du système lymphoïde plus précoce que du système nerveux central.
- Cependant, ce schéma de dissémination est dépendant du génotype des ovins, et la présence de PrPres est inconstante dans le système lymphoïde des animaux hétérozygotes ARR. De même un certain nombre d'études mettent en évidence la présence de PrPres dans l'encéphale en l'absence de dissémination dans les organes lymphoïdes, même chez des ovins de génotype pleinement sensible. L'hypothèse d'un effet dose, ou des particularités de certains isolats d'agent infectieux sont avancées pour expliquer ces observations, sans être clairement confirmées.
- Il n'existe que relativement peu d'études à grande échelle permettant d'estimer précisément la proportion d'animaux infectés détectables uniquement dans le système lymphoïde. Les études actuelles sont contradictoires, certaines trouvant autant ou plus d'animaux positifs par le système lymphoïde, d'autres, moins nombreuses, en trouvant moins. Pour les études trouvant plus d'animaux positifs par l'analyse du système lymphoïde, la proportion d'animaux positifs détectés uniquement à partir du système lymphoïde va de 17 à 37% d'animaux supplémentaires par rapport à l'analyse de l'obex. Cependant des études à grande échelle dont le schéma d'étude serait spécifiquement dédié à la comparaison de la sensibilité diagnostique du système nerveux central et du système lymphoïde demeurent nécessaires pour préciser ce paramètre.
- Cependant, la plupart des résultats actuels indiquent que la réalisation d'un diagnostic sur le système nerveux central seul ou à l'inverse sur le système lymphoïde seul conduit à une sous-estimation du nombre d'animaux réellement infectés. De même l'analyse d'un seul organe lymphoïde conduit à une

sous-estimation du nombre d'animaux infectés, variable selon l'organe lymphoïde utilisé. En revanche, l'analyse réalisée sur un mélange du système nerveux central (obex) et d'un organe lymphoïde (préférentiellement l'amygdale, le nœud lymphatique rétropharyngien, ou le nœud lymphatique iléal) réduirait fortement ce biais. Enfin, il faut noter que certains ovins infectés pourraient n'être détectés lors de phase précoce de la maladie que par une analyse du système nerveux périphérique (ENS) pour ce qui concerne certains génotypes résistants.

- La comparaison des différentes techniques diagnostique (IHC, ELISA, Western-Blot) n'est pas l'objet de la présente note de synthèse. Cependant, les différents résultats exposés ici semblent indiquer que, lors d'atteinte subclinique, l'IHC présente une sensibilité diagnostique supérieure à celles des autres méthodes (Western Blot en particulier) à partir du système nerveux central ou du système lymphoïde.

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 Virol* 81, 3115-26.
- Andreoletti, O., Chauvineau-Perrin, C., Corbiere, F., Lacroux, C., Chartier, C. & Schelcher, F. (2005). Approaches to Scrapie diagnosis by applying IHC and ELISA on obex and lymphoreticular tissue in goats : a field study In *SRTSE Network*. Bergen.
- Beekes, M. & McBride, P. A. (2000). Early accumulation of pathological PrP in the enteric nervous system and gut-associated lymphoid tissue of hamsters orally infected with scrapie. *Neurosci Lett* 278, 181-4.
- Bellworthy, S. J., Hawkins, S. A., Green, R. B., Blamire, I., Dexter, G., Dexter, I., Lockey, R., Jeffrey, M., Ryder, S., Berthelin-Baker, C. & Simmons, M. M. (2005). Tissue distribution of bovine spongiform encephalopathy infectivity in Romney sheep up to the onset of clinical disease after oral challenge. *Vet Rec* 156, 197-202.
- Benestad, S. L., Sarradin, P., Thu, B., Schonheit, J., Tranulis, M. A. & Bratberg, B. (2003). Cases of scrapie with unusual features in Norway and designation of a new type, Nor98. *Vet Rec* 153, 202-8.
- Brown, P., Rohwer, R. G., Dunstan, B. C., MacAuley, C., Gajdusek, D. C. & Drohan, W. N. (1998). The distribution of infectivity in blood components and plasma derivatives in experimental models of transmissible spongiform encephalopathy. *Transfusion* 38, 810-6.
- Bruce, M. E., McConnell, I., Will, R. G. & Ironside, J. W. (2001). Detection of variant Creutzfeldt-Jakob disease infectivity in extraneural tissues. *Lancet* 358, 208-9.
- Caplazi, P., O'Rourke, K., Wolf, C., Shaw, D. & Baszler, T. V. (2004). Biology of PrPsc accumulation in two natural scrapie-infected sheep flocks. *J Vet Diagn Invest* 16, 489-96.
- Diringer, H. (1984). Sustained viremia in experimental hamster scrapie. Brief report. *Arch Virol* 82, 105-9.
- Ersdal, C., Ulvund, M. J., Benestad, S. L. & Tranulis, M. A. (2003). Accumulation of pathogenic prion protein (PrPsc) in nervous and lymphoid tissues of sheep with subclinical scrapie. *Vet Pathol* 40, 164-74.
- Ersdal, C., Ulvund, M. J., Espenes, A., Benestad, S. L., Sarradin, P. & Landsverk, T. (2005). Mapping PrPsc propagation in experimental and natural scrapie in sheep with different PrP genotypes. *Vet Pathol* 42, 258-74.
- Gomez, N., Benedicto, L., Geijo, M. V., Garrido, J. M., Garcia-Crespo, D., Korkostegi, J. L., Hurtado, A. & Juste, R. A. (2007). Use of immunodiagnostic tests on an outbreak of scrapie in Latxa sheep: Pathogenetic and epidemiologic implications. *Small Ruminant Research* 72, 141-148.
- Heggebo, R., Gonzalez, L., Press, C. M., Gunnes, G., Espenes, A. & Jeffrey, M. (2003). Disease-associated PrP in the enteric nervous system of scrapie-affected Suffolk sheep. *J Gen Virol* 84, 1327-38.
- Heggebo, R., Press, C. M., Gunnes, G., Gonzalez, L. & Jeffrey, M. (2002). Distribution and accumulation of PrP in gut-associated and peripheral lymphoid tissue of scrapie-affected Suffolk sheep. *J Gen Virol* 83, 479-89.
- Heggebo, R., Press, C. M., Gunnes, G., Lie, K. I., Tranulis, M. A., Ulvund, M., Groschup, M. H. & Landsverk, T. (2000). Distribution of prion protein in the ileal Peyer's patch of scrapie-free lambs and lambs naturally and experimentally exposed to the scrapie agent. *J Gen Virol* 81, 2327-37.
- Houston, E. F., Halliday, S. I., Jeffrey, M., Goldmann, W. & Hunter, N. (2002). New Zealand sheep with scrapie-susceptible PrP genotypes succumb to experimental challenge with a sheep-passaged scrapie isolate (SSBP/1). *J Gen Virol* 83, 1247-50.
- Houston, F., Foster, J. D., Chong, A., Hunter, N. & Bostock, C. J. (2000). Transmission of BSE by blood transfusion in sheep. *Lancet* 356, 999-1000.
- Jeffrey, M., Begara-McGorum, I., Clark, S., Martin, S., Clark, J., Chaplin, M. & Gonzalez, L. (2002). Occurrence and distribution of infection-specific PrP in tissues of clinical scrapie cases and cull sheep from scrapie-affected farms in Shetland. *J Comp Pathol* 127, 264-73.
- 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, 280-9.

- Kimberlin, R. H. & Walker, C. A. (1989). Pathogenesis of scrapie in mice after intragastric infection. *Virus Res* 12, 213-20.
- Langeveld, J. P., Jacobs, J. G., Erkens, J. H., Bossers, A., van Zijderveld, F. G. & van Keulen, L. J. (2006). Rapid and discriminatory diagnosis of scrapie and BSE in retro-pharyngeal lymph nodes of sheep. *BMC Vet Res* 2, 19.
- Ligos, C., Cancedda, M. G., Madau, L., Santucci, C., Maestrone, C., Agrimi, U., Ru, G. & Di Guardo, G. (2006). PrP(Sc) deposition in nervous tissues without lymphoid tissue involvement is frequently found in ARQ/ARQ Sarda breed sheep preclinically affected with natural scrapie. *Arch Virol* 151, 2007-20.
- Maignien, T., Lasmezas, C. I., Beringue, V., Dormont, D. & Deslys, J. P. (1999). Pathogenesis of the oral route of infection of mice with scrapie and bovine spongiform encephalopathy agents. *J Gen Virol* 80 (Pt 11), 3035-42.
- Monleon, E., Monzon, M., Hortells, P., Bolea, R., Acin, C., Vargas, F. & Badiola, J. J. (2005). Approaches to Scrapie diagnosis by applying immunohistochemistry and rapid tests on central nervous and lymphoreticular systems. *J Virol Methods* 125, 165-71.
- Reckzeh, C., Hoffmann, C., Buschmann, A., Buda, S., Budras, K. D., Reckling, K. F., Bellmann, S., Knobloch, H., Erhardt, G., Fries, R. & Groschup, M. H. (2007). Rapid testing leads to the underestimation of the scrapie prevalence in an affected sheep and goat flock. *Vet Microbiol*.
- Sigurdson, C. J., Williams, E. S., Miller, M. W., Spraker, T. R., O'Rourke, K. I. & Hoover, E. A. (1999). Oral transmission and early lymphoid tropism of chronic wasting disease PrPres in mule deer fawns (*Odocoileus hemionus*). *J Gen Virol* 80 (Pt 10), 2757-64.
- Simmons, M. M., Konold, T., Simmons, H. A., Spencer, Y. I., Lockey, R., Spiropoulos, J., Everitt, S. & Clifford, D. (2007). Experimental transmission of atypical scrapie to sheep. *BMC Vet Res* 3, 20.
- Terry, L. A., Marsh, S., Ryder, S. J., Hawkins, S. A., Wells, G. A. & Spencer, Y. I. (2003). Detection of disease-specific PrP in the distal ileum of cattle exposed orally to the agent of bovine spongiform encephalopathy. *Vet Rec* 152, 387-92.
- van Keulen, L. J., Schreuder, B. E., Meloen, R. H., Mooij-Harkes, G., Vromans, M. E. & Langeveld, J. P. (1996). Immunohistochemical detection of prion protein in lymphoid tissues of sheep with natural scrapie. *J Clin Microbiol* 34, 1228-31.
- 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, 55-63.
- van Keulen, L. J., Vromans, M. E. & van Zijderveld, F. G. (2002). Early and late pathogenesis of natural scrapie infection in sheep. *Apmis* 110, 23-32.
- Vascellari, M., Aufiero, G. M., Nonno, R., Agrimi, U., Vaccari, G., Basilicata, L., Falcaro, C., Mancin, M., Marcon, S. & Mutinelli, F. (2005). Diagnosis and PrP genotype target of scrapie in clinically healthy sheep of Massese breed in the framework of a scrapie eradication programme. *Arch Virol* 150, 1959-76.
- Wells, G. A., Dawson, M., Hawkins, S. A., Green, R. B., Dexter, I., Francis, M. E., Simmons, M. M., Austin, A. R. & Horigan, M. W. (1994). Infectivity in the ileum of cattle challenged orally with bovine spongiform encephalopathy. *Vet Rec* 135, 40-1.
- Wells, G. A., Spiropoulos, J., Hawkins, S. A. & Ryder, S. J. (2005). Pathogenesis of experimental bovine spongiform encephalopathy: preclinical infectivity in tonsil and observations on the distribution of lingual tonsil in slaughtered cattle. *Vet Rec* 156, 401-7.

Maisons-Alfort, le

Référence/Sensibilité Diagnostique obex (%)	Animaux	Prélèvements	Technique	Résultats
69,2	Gómez <i>et al.</i> , 2007 1 troupeau 222 ovins Race : Latxa Infection naturelle	Encéphale, AMYG, PAUP, NLRP, TG	Sur 222 ovins : Biorad Platelia, Enfer TSE kit, Prionics Check LIA, Prionics Check WB Sur 50 ovins : IHC	<u>26 cas pos. (dont 4 cliniques)</u> Obex : 18 pos. tests rapides AMYG : 24 pos. / 25 testés NLRP 7 pos. / 15 testés PAUP 8 pos. / 17 testés TG : 9 pos. / 24 testés 6 pos. par IHC et nég. par tests rapides
98,3 23,5	Langeveld <i>et al.</i> , 2006 68 ovins origines et races diverses Cas cliniques ou pré cliniques Infection naturelle 18 ovins VRQ/VRQ dans un troupeau infecté (âge 2 à 26 mois)	Encéphale, NLRP Encéphale NLRP	Prionics Check WB IHC Prionics Check WB IHC	<u>62 pos.</u> Obex : 61 pos. NLRP : 54 pos. (IHC) 52 pos. (WB) Nég. à partir NLRP 2/7 (WB) et 1/7 (IHC) ARQ/ARQ 8/9 (WB) et 7/9 (IHC) ARR/VRQ NLRP: 17 pos; (IHC), 15 pos (WB) Encéphale: 8 pos (IHC), 4 pos (WB)
86,9	Ligios <i>et al.</i> , 2006 8 troupeaux, 1050 ovins Race : Sarda Infection naturelle 49 cas cliniques Race : Sarda Infection naturelle	Encéphale, AMYG, NLRP Encéphale, AMYG, NLRP, PP iléales, rate	Prionics Check WB IHC	<u>69 pos. subcliniques</u> Obex : 60 pos Lymphoïde : 51 pos. ENS : 12 pos. / 12 testés IHC <u>49 pos. cliniques</u> Obex : 49 pos. lymphoïde : 46 pos. ENS : 49 pos. (IHC) Résultats identiques IHC et WB 17 ARQ/ARQ et 1 AHQ/ARQ pos. obex et nég. lymphoïde 9 ARQ/ARQ pos. lymphoïde et nég. obex 3 ARQ/ARQ pos. obex et nég. lymphoïde
82	Ersdal <i>et al.</i> , 2003 1 troupeau 49 ovins Race : Rygja Infection naturelle	Encéphale, NLRP	IHC, histologie	<u>17 pos subcliniques.</u> Obex : 14 pos. NLRP : 17 pos. 3 cas pos. NLRP et nég. sur obex : 15 mois (n=1) et 2 ans (n=2)
77	Caplazi <i>et al.</i> , 2004 2 troupeaux 80 ovins Race : Suffolk Infection naturelle	Encéphale, iléon, NLM, PAUP, AMYG, rate, NLRP	IHC	<u>13 pos. (4 cliniques et 9 subcliniques)</u> Obex : 10 pos. / 13 testés AMYG : 12 pos. / 12 testés NLRP : 13 pos. / 13 testés PAUP : 12 pos. / 13 testés Rate : 9 pos. / 9 testés
87,5	Vascellari <i>et al.</i> , 2005 2 troupeaux 2068 ovins Race : Massese, 620 prélevés Infection naturelle	Encéphale, NLRP, AMYG, PAUP, rate	Prionics Check WB IHC	<u>32 pos. subcliniques</u> Obex : 28 pos. IHC 24 pos. WB AMYG : 29 pos. IHC NLRP : 29 pos. IHC PAUP : 18 pos. IHC Rate : 21 pos. WB
75,5	Reckzeh <i>et al.</i> , 2007 1 troupeau 603 ovins Race : Blackhead-Merino 169 ovins génotype sensible prélevés Infection naturelle	Encéphale, iléon, AMYG, PAUP, NLRP, NLM, rate... sur 129 ovins nég. sur obex	Biorad TSE IHC	<u>Sur les 169. 40 pos. obex</u> <u>13 pos. subcliniques</u> parmi les 129 neg. obex NLRP : 9 pos. Rate : 8 pos. NLM : 7 pos. AMYG : 9 pos. PP iléales : 8 pos. PAUP : 2 pos.

Maisons-Alfort, le

Tableau 1 : description semi-synthétique des études épidémiologiques citées

Tableau 1 : suite.

Référence Sensibilité Diagnostic obex (%)	Animaux	Prélèvements	Technique	Résultats
Jeffrey <i>et al.</i> , 2002 100	4 troupeaux 159 ovins prélevés race : Shetland infection naturelle 29 cas cliniques Infection naturelle	Encéphale, AMYG, NLRP, NLM, iléon, rate	Prionic Check WB (modifié) IHC histologie	<u>5 pos. obex subcliniques</u> 3 ARR/VRQ pos. obex et nég. lymphoïde (2 de 6 ans et 1 de 4 ans) IHC : 5 pos. / 5 WB : 2 pos. / 5 Histologie : 4 pos. / 5 <u>29 pos. cliniques</u> 2 ARQ/VRQ pos. obex et nég lymphoïde
Andreoletti <i>et al.</i> , 2005 62,4	11 élevages, 2661 caprins race : Saanen et Alpine Infection naturelle	Encéphale, AMYG, NLM, iléon	Biorad Sheep and Goats IHC	<u>181 pos. (dont 33 cliniques)</u> Obex : 113 pos. / 181 testés NLM : 174 pos. / 180 testés AMYG : 171 pos. / 180 testés Iléon : 143 pos. / 174 testés
Monleon <i>et al.</i> , 2005 91,2	34 ovins dont 26 cas clinique, 8 subcliniques Race : Rasa Aragonesa Infection naturelle	Encéphale, AMYG, NLRP	Prionics Check LIA, Prionics Check WB IHC	34 animaux pos. sur au moins un tissu Obex : 31 pos. IHC ; 30 pos. LIA ; 29 pos. WB. AMYG : 32 pos. IHC ; 31 pos. LIA ; 30 pos. WB. NLRP : 32 pos. IHC ; 29 pos. LIA ; 30 pos. WB

IHC = immunohistochimie, WB = Western-Blot, PP = plaques de Peyer, AMYG = amygdale, PAUP = 3^e paupière, NLRP = nœud lymphatique rétropharyngien ou mandibulaire, NLM = nœud lymphatique mésentérique, ENS = Enteric Nervous System : système nerveux associée au tube digestif, CNS : système nerveux central, pos = positif, nég = négatif.

Pour chaque étude, la sensibilité diagnostique des tests réalisés sur obex a été **estimée** en divisant le nombre d'animaux produisant un résultat positif sur un échantillon d'obex par le nombre total d'animaux produisant un résultat positifs sur au moins un tissu avec au moins une méthode.

Tableau 2 : description semi synthétique des principales études de physiopathologie citées

Référence	Animaux, nature infection et schéma d'étude	Prélèvements et technique	Résultats
Heggebo <i>et al.</i> , 2000	11 agneaux 6-8 semaines d'âge 2 VRQ/VRQ, 6 ARQ/VRQ, 3 ARR/ARQ Inoculation orale (15 ml homogénat 30 % de 5g de cerveau ARQ/VRQ ou VRQ/VRQ clinique) Abattage séquentiel à 1, 5 et 11 semaines post inoculation	Iléon (PP et ENS) IHC (pas de différence entre PrPres et PrPc)	Présence de PrP augmentée à 5 et 11 semaines post-inoculation dans l'ENS et les PP iléales Augmentation plus faible pour agneaux ARR/ARQ Pas de détail sur les effectifs positifs à chaque point.
Jeffrey <i>et al.</i> , 2001 Bellworthy <i>et al.</i> , 2005	60 agneaux race Rommey, 6 mois 20 ARQ/ARQ, 20 ARR/ARQ, 20 ARR/ARR Inoculation orale (homogénat 5 g à 10 % de cerveau bovin BSE) Abattage séquentiel à 4, 10, 16, 22 mois post inoculation et stade clinique (20-36 mois)	Encéphale, moelle épinière, AMYG, NLRP, NLM, rate IHC Histologie	<u>4 et 10 mois post inoculation :</u> NLRP : 2 pos. / 8 Autres tissus lymphoïde : nég. 8 / 8 Obex : nég. 8/8 <u>16 mois post inoculation</u> NLRP, AMYG, NLM, rate : 2 pos. / 4. Obex : nég. 4 / 4 <u>22 mois post inoculation</u> NLRP, AMYG, NLM, rate : 3 pos. / 5 Obex : 3 pos. / 5 <u>Stade clinique</u> NLRP, AMYG, NLM, rate : 3 pos. / 3 Obex : 3 pos. / 3 Absence de PrPres à 24 mois chez les agneaux ARR/ARQ et ARR/ARR
Langeveld <i>et al.</i> , 2006	18 agneaux VRQ/VRQ croisés Texel Infection naturelle Abattage séquentiel à 2, 3, 4, 5, 10, 13, 14 mois d'âge et stade cliniques (26 mois)	Encéphale, NLRP Prionics Check WB IHCTa	<u>2 mois d'âge</u> NLRP : faiblement pos. en IHC, nég. en WB Obex : nég. IHC et WB <u>3 – 5 mois d'âge</u> NLRP fortement pos. IHC et WB Obex : nég. IHC et WB <u>10 – 14 mois d'âge</u> NLRP fortement pos. ICH et WB Obex : faiblement pos. IHC, nég WB <u>17 mois et stade clinique (26 mois)</u> NLRP fortement pos. IHC et WB Obex : fortement pos. IHC et WB

Maisons-Alfort, le

Référence	Animaux, nature infection et schéma d'étude	Prélèvements et technique	Résultats
Heggebo <i>et al.</i> , 2002 Heggebo <i>et al.</i> , 2003	8 ovins Suffolk 20 – 24 mois d'âge 4 ARQ/ARQ cliniques euthanasiés à 23 – 24 mois. 2 ARQ/ARQ précliniques euthanasiés à 20 mois. 1 ARQ/ARR et 1 ARR/ARR sans signes euthanasiés à 20 mois. Infection naturelle	Encéphale, AMYG, PAUP, NLRP, NLM, rate, iléon... Histologie IHC	<u>Cas cliniques</u> Obex : fortement pos. IHC et histologie Tous autres tissus : IHC fortement pos. ENS : fortement positif <u>Cas précliniques</u> Obex : modérément pos. IHC et histologie Tous autres tissus : IHC fortement pos. ENS : IHC fortement positif Tous tissus nég. chez ARR/ARQ et ARR/ARR
Andreoletti <i>et al.</i> , 2000	56 agneaux Romanov 16 ARR/ARR 16 ARR/VRQ 24 VRQ/VRQ Infection naturelle Abattage séquentiel à 2, 3, 4, 5, 6 et 9 mois d'âge	Encéphale, AMYG, PAUP, rate, NLM, duodénum, jéjunum, iléon, NLRP... IHC	<u>2 mois d'âge</u> PP iléales et NLM iléal pos. (1/4) CNS : négatif <u>3-4 mois d'âge</u> Tous tissus lymphoïdes sauf PAUP : pos. (3/4) CNS : négatif <u>5 mois et plus</u> Tous tissus lymphoïdes : pos. (4/4) CNS : nég. <u>9 mois</u> ENS iléon et jéjunum : pos. (4/4) Obex et noyau dorsal nerf vague : faiblement pos. (1/4) Tous tissus négatifs chez ARR/ARR et ARR/VRQ
van Keulen <i>et al.</i> , 1996 van Keulen <i>et al.</i> , 1999	55 cas cliniques 2 à 5 ans Races diverses Infection naturelle	Encéphale, AMYG, PAUP, rate, NLM, duodénum, jéjunum, iléon, NLRP... IHC Histologie	54 pos. / 55 à partir AMYG, NLM, NLRP, rate ENS : pos. en IHC 55/55 1 ARR/VRQ pos. obex et nég. lymphoïde
van Keulen <i>et al.</i> , 2002	18 agneaux VRQ/VRQ Infection naturelle Abattage séquentiel à 1, 2, 3, 4, 5, 10, 14, 17, 21 mois d'âge et stade clinique (26 mois)	Encéphale, AMYG, PAUP, rate, NLM, duodénum, jéjunum, iléon, NLRP... IHC	<u>1 mois d'âge</u> Tous tissus nég. (2/2) <u>2 – 3 mois d'âge</u> NLRP, AMYG, PP iléales et NLM iléal pos. (3/4) CNS : nég. <u>4 – 5 mois d'âge et plus</u>

Maisons-Alfort, le

LE DIRECTEUR GÉNÉRAL

		<p>Tous tissus lymphoïdes pos. (4/4) CNS : nég <u>10 mois d'âge</u> ENS iléal et jéjunal : pos (2/2) Noyau dorsal nerf vague : pos (1/2) Moelle épinière : pos T8-T10 (1/2) <u>14 mois et plus</u> ENS : pos. sur tout le tube digestif Moelle épinière pos. T5-L1 Obex : pos. <u>Stade clinique</u> Positivité généralisée à tous les organes testés.</p>
--	--	---

IHC = immunohistochimie, WB = Western-Blot, PP = plaques de Peyer, AMYG = amygdale, PAUP = 3^e paupière, NLRP = nœud lymphatique rétropharyngien ou mandibulaire, NLM = nœud lymphatique mésentérique, ENS = Enteric Nervous System : système nerveux associée au tube digestif, CNS : système nerveux central, pos = positif, nég = négatif.