

## RECOMMANDATIONS SUR LES PRELEVEMENTS POUR ANALYSES EN SANTE ANIMALE

Tous les prélèvements doivent être clairement identifiés et accompagnés d'un bon de commande d'analyses (voir documents en ligne sur le site) , correctement renseignés. En particulier, la date de prélèvement doit être impérativement spécifiée.

Pour les conditionnements avec date de péremption (écouvillons et flacons stériles, tubes pour prélèvement de sang...), il est important de vérifier leur validité.

### PRELEVEMENTS SANGUINS

#### ™ PRELEVEMENT :

- remplir suffisamment les tubes, au minimum la moitié
- identifier les tubes de manière lisible avec des étiquettes disposées en longueur sur le tube – il est possible de passer le tube sous le robinet lorsqu'il est recouvert de sang ou de fumier

#### ™ CONSERVATION ET TRANSPORT :

- les fortes températures (dans les voitures par exemple) et la congélation sont absolument à éviter – ne pas placer les tubes directement contre une plaque eutectique
- placer les tubes sur des supports plastique ou polystyrène dans des boîtes adaptées pour éviter la casse pendant le transport – en l'absence de boîte spéciale remise par le LDA39, placer le tube dans un emballage permettant d'absorber les chocs (ex. : corps de seringue...)

#### ™ POUR SEROLOGIES (brucellose, leucose, IBR, BVD, varron, chlamydie, fièvre Q, néosporose, RSV, PI3, paratuberculose, leptospirose, ehrlichiose, fasciolose...)

- **MATERIEL** : tube sec (bouchon rouge) de 5 ml, aiguille, porte tube, liasse d'examen sérologique - **disponibilité au LDA39**
- **PRELEVEMENT** : pour la plupart des pathologies, les anticorps ne sont décelables que dans les 3 à 4 semaines après le début de l'infection – pour établir un diagnostic avec les maladies telles que RSV, PI3, il est fortement recommandé de procéder à une étude de séroconversion en réalisant deux prélèvements à 2 ou 3 semaines d'intervalle – dans ce cas, bien avertir du souhait d'une étude de séroconversion dès l'envoi du premier prélèvement pour qu'il soit conservé et analysé en même temps que le deuxième prélèvement
- **CONSERVATION** : afin de permettre la formation de caillot dans de bonnes conditions, laisser décanter à température ambiante pendant 12 heures avant de mettre au réfrigérateur. Pour cette même raison, les analyses ELISA ne sont pas pratiquées le jour du prélèvement (risque de faux positif assez fréquent).

#### ™ POUR AUTRES RECHERCHES BVD (Antigénémie, PCR) :

- **MATERIEL** : aiguille, porte tube, liasse d'examen sérologique - **disponibilité au LDA39**

™ antigénémie E0 (pour les bovins de plus de 6 mois – défaut de sensibilité en dessous de 6 mois) : tube sec (bouchon rouge) ou avec anticoagulant (EDTA)

™ PCR : tube de 5 ml avec EDTA (bouchon violet)

COMMEMORATIFS : bien préciser l'âge de l'animal car le choix de la technique en dépend.

#### ™ POUR RECHERCHE DE PARASITES SANGUINS

- **MATERIEL** : tube pour hématologie (bouchon violet) de 5 ml ou lames porte-objet pour réalisation d'étalement sanguin
- **PRELEVEMENT** : préférer le sang périphérique – prélèvement sur tube ou réalisation d'étalements sanguins (2 ou 3 de préférence) : déposer une goutte de sang sur une lame dégraissée (à l'alcool éther) – étaler la goutte sur la lame au moyen d'une lamelle ou d'une lame rodée (non pas en poussant mais en la tirant) – la goutte doit être complètement étalée avant la fin de la lame – laisser sécher et envoyer au plus vite au LDA

™ **POUR PARAMETRES BIOCHIMIQUES**

- **MATERIEL** : tubes spécifiques – non disponibles au LDA sauf sur demande préalable

**PRELEVEMENTS DE MATIERES FECALES**

™ **POUR COPROSCOPIE ou Baërmann**

- **MATERIEL** : gant d'examen rectal – boîte plastique hermétique **disponible au LDA39**, emballage tertiaire en carton
- **PRELEVEMENT** :
  - récolte des matières fécales directement sur l'animal, à l'aide d'un gant d'examen rectal ou à la rigueur juste après émission - les fèces demeurant au sol sont rapidement contaminées, en particulier par des nématodes libres ou des acariens, ce qui perturbe l'analyse - les éléments parasitaires peuvent évoluer dans les matières fécales au sol, ou être détruits - les quantités minimales à récolter sont de 200 g pour les grands animaux et de 50 g pour les carnivores
  - pour les espèces élevées en troupeau, l'analyse peut être réalisée en individuel ou sur des mélanges de fèces de 5 à 10 animaux d'une même classe zootechnique (jeunes, femelles, séparation par classes d'âge...)
- **COMMEMORATIFS** : préciser l'espèce et l'âge
- **ACHEMINEMENT** :
  - le plus rapidement possible
  - les formes végétatives des flagellés (*Giardia*) ne se conservent que quelques heures et ne supportent pas la réfrigération
  - les larves de nématodes sont rapidement tuées - pour le dépistage des larves de Dictyocaulus, très fragiles, l'acheminement au laboratoire doit se faire dans les 12 h qui suivent le prélèvement.
  - pour la recherche des œufs de parasites ou des ookystes de coccidies, les fèces peuvent être conservées au réfrigérateur durant plusieurs jours (4 à 8 jours) avant analyse

™ **POUR RECHERCHE DE PARATUBERCULOSE PAR BACTERIOSCOPIE :**

- **PRELEVEMENT** :
  - le raclage de la muqueuse rectale n'est pas obligatoire et les matières fécales conviennent
  - associer de préférence avec une recherche sérologique (joindre un échantillon de sang sur tube sec)
- **CONSERVATION ET EXPEDITION** : sous couvert du froid (entre +2° et +8°C)

™ **POUR RECHERCHE DES AGENTS DE LA DIARRHEE NEONATALE** par ELISA ou/et par bactériologie chez les veaux (jusqu'à un mois d'âge)

- **MATERIEL** : gant d'examen rectal – flacon ou pot stérile
- **PRELEVEMENT** :
  - prélever en phase clinique débutante, de préférence avant toute administration antibiotique
  - il est conseillé d'analyser les fèces d'au moins 3 animaux - mélanges possibles (maxi 2 animaux)
  - pour les cas difficiles, prélever 3 jours consécutifs sur plusieurs veaux en gardant les prélèvements au réfrigérateur
  - volume mini 1 cm<sup>3</sup> – mais quantité suffisante lors de recherches multiples
- **ACHEMINEMENT ET CONSERVATION** :
  - acheminement rapide entre +2° et +8°C (plaques eutectiques)
  - ne pas congeler

## PRELEVEMENTS DE LAIT

### ™ POUR RECHERCHE D'ANTICORPS DANS LE LAIT :

- PRELEVEMENT :
  - lait de mélange : prélever à partir d'un tank réfrigéré à 5°C +/- 3°C
  - lait individuel : prélever chaque quartier individuellement et faire le mélange à parts égales
- ACHÈMINEMENT :
  - dans les 48 heures maxi avant analyse pour un échantillon conservé entre 0° et 8°C
  - dans les 96 heures avant analyse avec adjonction de 0,05 ml d'une solution aqueuse à 120 g/l de Bromopol pour 30 ml de lait
  - congélation <= - 16°C pour une conservation plus longue possible pour les analyses ELISA

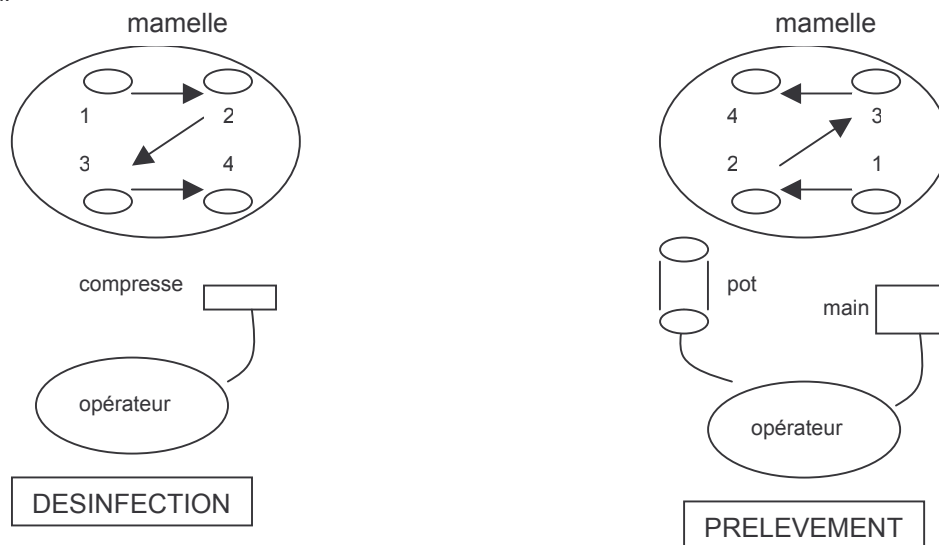
### ™ POUR BACTERIOLOGIE :

#### Lait de tank (salmonelles, *Listeria*, flore totale, dénombrement de staphylocoques, de coliformes à 30°C)

- MATERIEL : gant jetable, seringue stérile de 50 ml, pot stérile de 50 ml (bouchon à vis)
- PRELEVEMENT :
  - mettre l'agitateur du tank en route pendant 2 minutes
  - mettre un gant jetable
  - prendre la seringue stérile de 50 ml et immerger l'extrémité
  - prélever 50 ml de lait dans le tank et verser le contenu de la seringue dans le pot stérile de 50 ml

#### Lait de la mamelle (mammites, salmonelles, *Listeria*, dénombrement de staphylocoques)

- MATERIEL : alcool à 70°, papier à usage unique, seau, antiseptique léger (VETEDINE<sup>ND</sup>,...), compresses stériles, pot stérile de 50 ml à ouverture large
- PRELEVEMENT :
  - attacher la queue
  - nettoyer les trayons et les sécher
  - traire les 4 quartiers (un litre par quartier) pour obtenir du lait provenant des acini ou des fins canaux galactifères
  - lavage des mains
  - désinfection des trayons : commencer par le postérieur le plus éloigné, puis l'antérieur et finir par les deux trayons proximaux – cela évite une contamination des autres trayons par la manche de l'opérateur



- désinfection des mains à l'alcool

- placer le flacon presque à l'horizontale près de l'orifice du trayon, l'ouvrir et placer le bouchon partie concave vers le bas pour éviter que les poussières ne tombent dedans
- avec sa main libre, faire gicler un ou, au plus, deux jets de lait dans le flacon sans que l'extrémité du trayon ne touche le flacon
- recommencer l'opération en respectant le protocole suivant : commencer par le trayon antérieur proximal, puis le postérieur et finir par les deux trayons distaux
- 1 flacon par trayon dans le cas de mammites, 1 flacon pour les 4 trayons pour recherche de salmonelles, *Listeria*
- les flacons sont rebouchés sans bouger de place, puis identifiés, au crayon marqueur, par l'identité de la vache, la date et, éventuellement, la position du trayon.

#### ACHEMINEMENT ET CONSERVATION :

les flacons sont conduits rapidement au laboratoire, sinon ils sont conservés au froid positif (entre +2° et +8°C) et envoyés, sous couvert du froid (plaques eutectiques) afin qu'ils arrivent dans les 24 heures.

Il existe des kits de prélèvement et conservation au froid par congélation (CRYOKIT de Intervet) qui permettent de réaliser plusieurs prélèvements sur un même animal dans le temps et de les traiter simultanément.(s'adresser au LDA).

### **PRELEVEMENTS DE PLACENTA**

™ **MATERIEL** : boîtes hermétiques– gants de délivrance, emballage tertiaire en carton, disponibles au LDA39

™ **PRELEVEMENT** :

- prélever, autant que possible, le placenta dans l'utérus et non pas sur le sol (contamination possible par des salmonelles, des champignons ou des *Listeria* de l'environnement)
- sélectionner les houppes placentaires

™ **ACHEMINEMENT** : le plus rapidement possible – sous couvert du froid (+ 2°C à + 8°C) et pour la brucellose, avec l'échantillon de sang et les documents officiels

NB : La réglementation en cas de police sanitaire de la brucellose impose un écouvillonnage du col, le matériel n'est pas fourni par le LDA.

### **PRELEVEMENTS SUR ECOUVILLONS (cutanés, oculaires, auriculaires, nasaux, urétraux, vaginaux) – RACLAGES CUTANES**

™ **MATERIEL** :

- écouvillon stérile sec (disponible au LDA39) ou sur milieu d'Amies gélosé + charbon (bactériologie)
- raclage cutané : lame de scalpel érodée stérile – tube sec stérile

™ **PRELEVEMENT** :

- n'ouvrir l'écouvillon qu'à la dernière minute et l'humecter largement des sérosités
- lors d'examen dans différentes directions (bactériologie aérobie, anaérobie, bactérioscopie, virologie, mycologie, parasitologie...), multiplier les écouvillons autant que nécessaire car leur contenu est souvent pauci-infectieux
- abcès : nettoyer superficiellement la zone pour avoir accès à la jonction tissu "sain" – tissu contaminé
- raclage cutané : sur lésion récente, et plutôt en périphérie, jusqu'à la rosée sanguine pour recherches de gale – veiller à ce que le prélèvement contienne suffisamment de squames et pas seulement des poils

™ **ACHEMINEMENT** : le plus rapidement possible – si recherche bactériologique, tubes secs : sous couvert du froid (acheminement de préférence dans les 4 heures) ou tubes avec conservateur (milieu d'Amies gélosé + charbon, acheminement dans les 48 à 72 heures)

## **PRELEVEMENTS D'ORGANES**

### **™ POUR HISTOLOGIE**

#### ● MATERIEL :

- flacons de volume adapté à la nature et au volume du tissu lésé, à col large (diamètre nettement supérieur à la taille du prélèvement), incassables et étanches – volume du liquide de fixation = minimum **10 fois le volume du tissu à fixer**
- liquide de fixation : eau physiologique formolée à 10%
- étiquette autocollante pour renseigner sur l'identification de l'organe, la date de fixation et le fixateur utilisé
- scalpel neuf pour réaliser des sections à bords nets

#### ● PRELEVEMENT :

##### **NE JAMAIS CONGELER**

- les prélèvements doivent être réalisés sur animal vivant, mourant ou juste après la mort (maxi 16 heures), certains tissus s'autolysant très rapidement
- prélever des cubes de 1 cm de côté au maximum représentatifs des structures histologiques macroscopiquement modifiées et situés à la jonction entre le tissu apparemment sain et le tissu lésé – de même, les prélèvements doivent comprendre le centre (médullaire, parenchyme...) et la périphérie (capsule, corticale...) de l'organe lésé
- possibilité de limiter le volume du liquide de fixation en le renouvelant plusieurs fois à 12 heures d'intervalle

#### ● ACHEMINEMENT :

- une fois fixé, l'acheminement peut être différé
- s'assurer de l'étanchéité du flacon
- transport à température ambiante.

### **™ FRAGMENT DE POUMONS POUR RECHERCHE DE BACTERIES ET/OU DE VIRUS PAR PCR**

#### ● PRELEVEMENT :

- rapide après la mort
- les pasteurelles se localisent préférentiellement au cœur des tissus lésés et souvent au niveau des lobes apicaux
- la recherche des virus se fait sur le tissu dans la région des grosses bronches comprenant des parties "saines" et des parties lésées

#### ● CONSERVATION ET ACHEMINEMENT :

- les pasteurelles supportent mal le froid (ensemencement sur poumon frais non réfrigéré)
- la congélation est possible pour les recherches virales ou bactériennes par PCR.

## **PRELEVEMENTS D'URINE**

™ MATERIEL : flacon stérile (si analyse bactériologique) – volume 5 à 10 ml

™ PRELEVEMENT : récolter de préférence l'urine par cathétérisme de l'urètre à l'aide d'une sonde stérile avant traitement antibiotique ou antiseptique

™ ACHEMINEMENT : rapide, sous couvert du froid.

## **PRELEVEMENTS POUR PCR**

™ DE MANIERE GENERALE (mais demande de renseignement au préalable préférable)

- sang : sur EDTA (pas sur héparine) sans centrifugation
- lait : avec conservateur possible (bromopol) mais traitement avant 48 heures
- organes : frais et conservés à +5°C, ou mieux, à une température  $\leq -16^{\circ}\text{C}$  – non fixés
- écouvillons sur cytobrosse

## **CADAVRES POUR AUTOPSIE**

### **™ PRELEVEMENT :**

- les effets des traitements (anti-infectieux...) peuvent parfois gêner les recherches à entreprendre
- pour les volailles, les lapins,..., l'examen de lots (de 2 à 5 sujets) est préférable, d'autant plus que le coût est le même pour un lot de petits animaux que pour un seul sujet.

### **™ CONSERVATION :**

- maintenir les cadavres au frais - la congélation est à proscrire – éviter les gelées en hiver

### **™ ACHEMINEMENT :**

- plus les cadavres sont frais, meilleur est l'examen – les animaux moribonds peuvent même être apportés vivants au LDA et sacrifiés ensuite - néanmoins, les examens réalisés dans les 24 à 48 h (voire plus en hiver) après la mort sont en général correct
- les animaux jusqu'à 150-200 kg peuvent être apportés au laboratoire.
- pour les animaux plus lourds, les autopsies peuvent être réalisées à l'équarrissage de St-Amour. Pour cela, il est indispensable :
  - d'identifier le cadavre avec une pancarte en bois ou en plastique dur (disponible chez les vétérinaires) fixée avec du fil de fer au cou de l'animal et indiquant « AUTOPSIE – LDA39 » et avec des marques de peinture orange ou rose sur les deux côtés et la tête de l'animal
  - d'avertir l'équarrissage le plus rapidement possible du souhait d'une autopsie
  - d'avertir ensuite le LDA en donnant le n° d'identification complet (national + travail) pour les bovins, ou le signalement complet pour les chevaux, le sexe, l'âge, la race, l'état de gestation, la date de la mort, les coordonnées du propriétaire et les commémoratifs détaillés (symptômes, traitements, vaccinations, alimentation...)
  - d'avertir à nouveau le chauffeur du camion d'équarrissage du souhait d'une autopsie au moment du ramassage afin qu'il le signale au moment du dépôt au clos d'équarrissage.
  - Toutes ces précautions sont indispensables mais ne garantissent pas malgré tout la remise à disposition du cadavre au vétérinaire du laboratoire dans tous les cas..