

# REVUE DE CONTRAT

## Echantillons destinés à des analyses en Santé Animale

### INFORMATIONS GENERALES

#### **Avant d'envoyer votre échantillon**

En fonction de votre objectif nous pouvons vous conseiller sur le type d'analyse à réaliser, sur la technique de prélèvement, sur les précautions éventuelles pour la transmission des échantillons au laboratoire et les délais d'analyses.

Pour toute demande d'analyse le laboratoire :

- ☛ Vous fournit du **matériel à prélèvement adapté** (tubes, écouvillons avec ou sans milieu de transport, flacons stériles et non stériles, ...)
- ☛ Des fiches de renseignements ainsi que du **matériel de transport** : destiné à la transmission des échantillons dans les meilleures conditions.

#### **Afin que les analyses soient adaptées à vos besoins**

☛ Tout prélèvement doit être accompagné d'une demande d'analyse sur laquelle figure **à minima** les renseignements suivants :

- le (les) demandeur(s) : nom, adresse complète
- le nombre de prélèvement(s) transmis
- analyte(s) recherché(s)

Si possible, afin de clarifier de la demande :

- Le(s) tiers : nom et adresse
- L'adhésion à une structure, un groupement
- La référence à un devis
- La nature des échantillons transmis
- L'identification reportée directement ou indirectement (étiquette code à barre) sur les échantillons
- Les principes des méthodes d'analyses désirés et si besoins les références des méthodes souhaitées
- Les commémoratifs
- Le degré d'urgence

- La demande accompagnant les prélèvements vaut pour revue de contrat. Autrement dit, les analyses seront réalisées après « traduction » (interprétation) des informations portées sur la demande, associées à la nature des échantillons transmis. Par conséquent, plus les indications seront précises, et plus les travaux réalisés seront en adéquation avec les attentes du demandeur.

- Les informations communiquées par le client ou son représentant, n'engagent pas la responsabilité du laboratoire

- En cas d'incohérence entre la demande formulée et la nature des échantillons fournis, le demandeur ou son représentant (prescripteur) seront contactés afin de déterminer la suite à donner à la demande.

- Sans précisions de la part du demandeur ou de son représentant, les références des méthodes appliquées sont celles en vigueur sur la portée d'accréditation du laboratoire, ou dans le laboratoire si analyse non accréditée, à la date de la demande. Les références des méthodes utilisées sont disponibles sur simple demande au laboratoire, et sont précisées dans les rapports d'analyses.

Remarque : A un instant donné, pour la réalisation d'une analyse accréditée pour un analyte donné, le laboratoire peut disposer d'une ou plusieurs références définies dans la portée d'accréditation détaillée. Sans précisions de la part du demandeur ou de son représentant sur la méthode à utiliser, le laboratoire se réserve le droit d'utiliser la référence de son choix en fonction des disponibilités du matériel et/ou du réactif.

- **Lorsque le demandeur passe par un prescripteur, ce dernier en tant que conseiller du premier, engage par sa prescription (demande d'analyses) le demandeur à accepter techniquement et financièrement les travaux effectués.** Autrement dit, la transmission au laboratoire d'une demande d'analyse par un prescripteur, sous-entend que le demandeur a été informé du nombre et de la nature des analyses demandées, du coût financier engendré par la réalisation de ces analyses et qu'il les accepte.

- **Avertissement sur les analyses de mélange d'échantillons** :

**Le résultat obtenu à partir d'un mélange de prélèvements ne présage pas des résultats qui seraient obtenus à partir d'analyses individuelles**

Sauf indication clairement portée et argumentée sur la demande d'analyse, les analyses de mélange en sérologie ELISA Brucellose, IBR, leucose Bovine Enzootique, Hypodermose, Aujeszky, SDRP et PCR BVD donnent lieu systématiquement à l'analyse individuelle des échantillons constituant le mélange trouvé non conforme.

**Remarque sur la signification du CT (Cycle Threshold = cycle seuil) :**

**La valeur de Ct informe du nombre de cycles de PCR nécessaires à la détection d'une courbe d'amplification caractéristique. Cette valeur n'est pas comparable d'un laboratoire à un autre ; Pas d'info sur le nombre de copies génomes.**

- Dans le cas où le laboratoire ne réalise pas la ou les analyses demandées, et sans demande particulière du prescripteur, le laboratoire se réserve le droit de transmettre tout ou une partie des échantillons au(x) laboratoire(s) de son choix pour cotraitance. Des frais de traitement et d'envoi seront alors facturés au client pour la gestion du ou des prélèvement(s).

- Sauf cas de force majeure, le laboratoire ne sous-traite pas les analyses pour lesquelles il est accrédité.

☞ Lorsque les demandes d'analyses qui nous parviennent ne comportent pas d'indication quant à la méthode que vous souhaitez voir appliquer à l'échantillon (par exemple : IBR, Achat...), ou quant à l'espèce de Salmonelle que vous souhaitez voir isoler et identifier (ceci s'adresse particulièrement au secteur aviaire), et qu'un choix de principe de méthode d'analyse est possible (voir catalogue), alors les principes de méthodes suivantes sont appliquées par défaut :

INFORMATIONS GENERALES	Nature Echantillon / Espèce animale	Motif (non exhaustif)	Maladie/ Recherche	Méthode(s) appliquée(s) Par défaut
	SERUM / BOVINE	Achat Avortement	Brucellose, Sérologie	EAT
		Diagnostic Exportation	Brucellose, sérologie	ELISA individuel.
		Prophylaxie	Brucellose, sérologie	ELISA mélange
		Achat-Vente Diagnostic Exportation Avortement Prophylaxie	IBR, sérologie	Schéma protocole IBR AFSE

INFORMATIONS GENERALES

		<b>Motif (non exhaustif)</b>	<b>Maladie/ Recherche</b>	<b>Méthode(s) appliquée(s) Par défaut</b>
	<b>SERUM / BOVINE</b>	Achat-Vente Diagnostic Exportation Prophylaxie (1 animal)	Leucose, sérologie	ELISA individuel
		Prophylaxie	Leucose, sérologie	ELISA mélange
		Achat-Vente Diagnostic Exportation Avortement	BVD, sérologie	ELISA individuel: recherche d'anticorps dirigés contre la protéine p80 du virus.
		Achat-Vente Diagnostic Exportation Avortement	BVD, antigénémie	ELISA individuel°: recherche de l'antigène viral E0 sur sérum. RT-PCR réalisée sur sang prélevé sur EDTA , sur tube sec ; sur échantillon individuel ou en mélange d'échantillon selon le contexte (contacter le laboratoire pour avoir des précisions). Attention la PCR sur mélange de sérums ne s'applique pas pour les bovins âgés de moins de 3 mois.
	<b>SERUM / OVINE, CAPRINE, PORCINE</b>	Achat-Vente Diagnostic Exportation Avortement	Brucellose, sérologie	EAT
	<b>SERUM, PAPIER BUVARD / PORCINE</b>	Achat-Vente Diagnostic Exportation	Aujeszky, sérologie	ELISA individuel: Recherche d'anticorps dirigés contre la protéine virale gB.
		Prophylaxie	Aujeszky, sérologie	ELISA mélange : Recherche des anticorps dirigés contre la protéine virale gB.
	<b>ENVIRONNEMENT DES PRODUCTIONS ANIMALES</b>	Diagnostic Prophylaxie	Salmonelle, Bactériologie	Recherche de Salmonella sp (normes NF U 47 100). Si recherche d'un sérovar particulier (Enteritidis, Typhimurium...), le préciser sur la demande d'analyse.

	<b>OISEAUX</b>	Diagnostic Prophylaxie	Salmonelle, Bactériologie	Recherche de Salmonella sp (normes NF U 47 101). Si recherche d'un sérovar particulier (Enteritidis, Typhimurium...), le préciser sur la demande d'analyse.
		<b>Motif (non exhaustif)</b>	<b>Maladie/ Recherche</b>	<b>Méthode(s) appliquée(s) Par défaut</b>
	<b>ECOUVILLON OISEAU / CLOACAL, TRACHEALE</b>	Enquête, exportation, suspicion	Influenza aviaire, gène M, H5 et H7	Méthodes PCR élaborées par le LNR ANSES de Ploufragan
	<b>ECOUVILLON / EQUINE</b>	Diagnostic Prophylaxie	Mérite Contagieuse des Equidés	Recherche par culture NF U47-108 si délai prélèvement arrivée au laboratoire inférieur à 24h sinon Immunofluorescence ou PCR
	<b>ORGANES / BOVINE</b>	Diagnostic	Recherche de tuberculose	Culture NF U47-104 et PCR NF U47-600 -1

**Avis et interprétations** : Le laboratoire ne donne pas d'avis et d'interprétation ou de déclaration de conformité sur les résultats qu'il émet, et ce pour l'association des raisons suivantes :

- Le laboratoire n'a jamais l'intégralité de l'historique de la structure ou des individus dont sont issus les prélèvements,
- Le laboratoire ne réalise pas les prélèvements des échantillons
- Le laboratoire n'identifie pas les échantillons
- Le laboratoire n'a pas d'historique sur le mode et le temps de conservation des échantillons avant leur arrivée au laboratoire.

## AUTOPSIE

### **Avant d'envoyer les animaux** :

☞ En ce qui concerne les recherches liées à un problème pathologique, il est important de pouvoir travailler sur un sujet mourant ou juste mort et si possible non traité, présentant les symptômes les plus caractéristiques de l'ensemble, s'il s'agit d'un troupeau.

☞ Si l'animal est mort, il est indispensable de connaître la date de la mort qui peut être un facteur limitant pour certaines recherches : virologiques et histologiques notamment.

☞ Tout prélèvement en état de putréfaction est inexploitable pour un examen microbiologique et/ou virologique.

## **BACTERIOLOGIE**

### **Avant d'envoyer votre échantillon :**

- ☞ Si possible, de préférence un échantillon provenant d'un animal non traité.
- ☞ Pour tout examen bactériologique, l'échantillon prélevé doit être adapté à la demande, et doit être envoyé **rapidement après prélèvement**, dans un container stérile, référencé et sous couvert du froid positif
- ☞ Il est toujours préférable suite à la mort d'un animal d'avoir le **cadavre entier**. Toutefois si les organes sont adressés au laboratoire ils seront disposés dans des flacons séparés et référencés. De plus, ils devront être envoyés rapidement sous couvert du froid positif.

### **Précautions à prendre pour l'envoi des échantillons**

- ☞ **Les prélèvements de lait, matières fécales, urines, exsudat** ...seront transportés dans un flacon stérile (bouchon rouge).
- ☞ **Les prélèvements purulents**, en fonction de leur quantité et de leur localisation seront conditionnés dans un flacon ou une seringue stérile, ou à l'aide d'un écouvillon déposé dans un milieu de transport.
- ☞ Les prélèvements effectués avec un **écouvillon** sont de préférence à insérer dans un milieu de transport adapté.

Pour maintenir l'envoi sous couvert du froid positif, vous pouvez utiliser des petits blocs eutectiques ou simplement des glaçons mis dans un sac plastique noué.

### ☞ **Mérite contagieuse équine**

. Recherche par bactériologique, le ou les **écouvillons** seront transmis au Laboratoire dans les **24 heures maximum dans un milieu de transport AMIES charbon si l'échantillon est à température ambiante, ou 48 maximum si l'échantillon est réfrigéré**.

. Recherche par immunofluorescence, les écouvillons seront transmis au laboratoire dans **les 72 heures maximum**.

Recherche par PCR : le ou les **écouvillons sur milieu de transport Amies charbon** seront transmis au Laboratoire dans les 48 heures maximum.

### ☞ **Salmonelles dans l'environnement des productions animales**

Pour l'isolement et l'identification de Salmonelles, dans l'environnement des productions animales, des chiffonnettes et pédichiffonnettes stériles peuvent vous être fournies avec ou sans neutralisant. Lorsque le prélèvement est réalisé suite à un nettoyage et une désinfection, du neutralisant doit être ajouté et malaxé au prélèvement immédiatement après sa réalisation et avant son acheminement au laboratoire. Les échantillons doivent parvenir sous 24 heures au laboratoire. Le délai entre la réalisation du prélèvement et la mise en analyse ne devra pas excéder 96 heures.

### ☞ **Recherche et isolement de mycobactéries du complexe Mycobacterium tuberculosis chez les mammifères**

Les ganglions et organes doivent parvenir au laboratoire dans des flacons hermétiques sous 48 heures après prélèvement et sous couvert du froid positif. Dans l'impossibilité de tenir ces délais, les échantillons peuvent être congelé à une température inférieure à -16°C.

**Attention l'histologie ne peut être réalisée que sur prélèvement non congelé.**

## MYCOLOGIE

Le Laboratoire assure les **recherches de levures moisissures et leur identification** sur des prélèvements d'origine animale, de l'environnement et de l'alimentation.

Nous assurons également le diagnostic des mycoses cutanées et des infections auriculaires chez les animaux de compagnie.

### Qualité du prélèvement

☞ La recherche de **Dermatophytes** nécessite **un nombre de poils avec bulbe** suffisant (30 environ) prélevés à la périphérie de la lésion, pour pouvoir effectuer un examen microscopique direct et une mise en culture.

## PARASITOLOGIE

### Précautions à prendre pour l'envoi des échantillons

☞ La **coprologie parasitaire** a lieu sur un prélèvement de matières fécales (environ 20 g) fraîchement prélevé dans le rectum et transporté aussitôt au laboratoire ou par grattage de la muqueuse intestinale d'un cadavre.

☞ Sur un sujet fraîchement autopsié il est également possible de détecter des **parasites au niveau des organes** (strongles respiratoires, œstres ...).

### Recherche de parasites cutanés :

Une recherche de parasites cutanés tels que les **Sarcoptes** nécessite un **grattage cutané à la périphérie de la lésion jusqu'à la rosée sanguine**. Pour la mise en évidence des Demodex il est nécessaire de presser le pli de peau préalablement.

Dans ce cas vous pouvez nous adresser par exemple une **lame de scalpel** à usage unique avec les squames cutanées provenant du grattage, mis dans un **flacon**.

## SEROLOGIE

Rappels concernant les prélèvements sanguins destinés à une recherche d'anticorps spécifiques

☞ **Les prises de sang doivent être effectuées sur tube sec (bouchon rouge) de 5 ml parfaitement remplis.**

Si les prises de sang ne sont pas transférées immédiatement au laboratoire, elles doivent être conservées à  $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$  **en respectant préalablement un passage à température ambiante** pour permettre l'exsudation du sérum. Si le délai entre le prélèvement et l'arrivée au laboratoire excède 9 jours calendaires, le laboratoire se réserve le droit d'émettre une réserve sur les résultats dans son rapport d'analyse.

Les prises de sang ne doivent jamais être placées dans des conditions extrêmes de température (congélation ou température élevée).

☞ **Cas particulier des prélèvements sanguins sur tube sec qui ont fait l'objet d'une séparation du sérum qui est envoyé seul au laboratoire**

La séparation du sérum après exsudation du caillot est fortement recommandée pour les demandes d'analyse sérologique par technique de séroneutralisation, l'hémolyse produisant des effets toxiques sur les cultures cellulaires utilisées. Le sérum ainsi obtenu peut être conservé jusqu'à 15 jours calendaires en réfrigération ou plus longtemps par congélation. Dans le cadre d'un titrage d'anticorps après vaccination, un délai de conservation réfrigéré au-delà de 15 jours peut provoquer une baisse du titre initial.

### ☞ **Incertitude sur les analyses sérologiques par méthode ELISA**

Pour avoir l'information sur une méthode donnée, nous consulter.

### ☞ **Incertitude sur les analyses sérologiques quantitatives Fixation du Complément, IHA et Séroneutralisation**

Sur les techniques analytiques citées ci-dessus, l'incertitude sur le résultat exprimé, est de plus ou moins une dilution.

### ☞ **Cas particulier des prélèvements sanguins sur papiers filtres pour le sérodiagnostic de la maladie d'Aujeszky**

Les papiers filtres (Wathman 3) doivent être bien imbibés du sang des animaux sur leurs 2 faces, au même endroit, et sur une surface suffisante pour prélever 5 pastilles à l'aide d'un emporte-pièce de bureau

Ils doivent être identifiés et parfaitement secs avant d'être rangés et/ou superposés pour l'envoi au laboratoire dans un contenant non hermétique.

S'ils ne sont pas envoyés immédiatement au laboratoire, ces prélèvements doivent être conservés à température ambiante dans un contenant non hermétique.

## **BIOLOGIE MOLECULAIRE**

### ☞ **MALADIE DES MUQUEUSES BVD**

#### **Sang sur EDTA :**

Quantité : 1 tube bien rempli et retourné doucement plusieurs fois après prélèvement pour éviter la formation de caillots

Transfert du prélèvement le plus rapidement possible au laboratoire en sachant que le délai entre la réalisation du prélèvement et l'extraction de l'ARN viral doit être inférieur à 10 jours.

Dans l'attente de son acheminement au laboratoire, le tube de sang doit être conservé au froid positif.

Donner avec précision le motif de la recherche : achat ou diagnostic....

#### **Cartilage auriculaire :**

Transférer le plus rapidement possible la boucle au laboratoire : délai maximum d'acheminement de 7 jours en période estivale ou de 18 jours hors période estivale pour une analyse PCR, et moins de 31 jours quelle que soit la période de l'année pour ELISA antigène E0. En attendant son envoi, à conserver au froid positif. En cas d'impossibilité d'envoi les biopsies auriculaires peuvent être congelées à une température inférieure à -18°C, directement après le bouclage des veaux. Les échantillons peuvent ainsi être conservés pendant une durée maximale de 12 semaines

#### **Sérum :**

Quantité : 1 tube bien rempli, maintenu à température ambiante jusqu'à formation du caillot, rétractation de ce dernier et début d'exsudation du sérum. Puis stocker au froid positif.

Transfert du prélèvement le plus rapidement possible au laboratoire en sachant que le délai entre la réalisation du prélèvement et l'arrivée au laboratoire doit être inférieur à 10 jours.

Dans l'attente de son acheminement au laboratoire, le tube de sang doit être conservé au froid positif.

Donner avec précision le motif de la recherche : achat ou diagnostic....

Attention la PCR sur mélange de sérums n'est pas utilisable pas pour les bovins âgés de moins de 3 mois.

#### **Lait :**

Quantité : Un pot à urine de 60 ml

L'ajout d'un comprimé de Bromopol (*fournit par le laboratoire\**) est fortement recommandé pour la conservation du prélèvement.

Transfert du prélèvement le plus rapidement possible au laboratoire en sachant que le délai entre la réalisation du prélèvement et l'extraction de l'ARN viral est de 24 h. pour un lait non traité au Bromopol.

**Avec Bromopol**, le délai entre la réalisation du prélèvement et l'extraction de l'ARN viral doit être inférieur à 10 jours.

Dans l'attente de son acheminement au laboratoire, le lait doit être conservé au froid positif.

**(\*) Le matériel nécessaire au prélèvement (pot + Bromopol) est fourni par le laboratoire sur simple demande.**

#### **Organes :**

Transfert du prélèvement le plus rapidement possible au laboratoire.

Dans l'attente de son acheminement au laboratoire, l'organe peut être congelé ou maintenu au froid positif.

#### **Issus d'avortement : Liquide fœtal, tissu fœtal, mucus vaginal, placenta**

A transmettre dans un pot à avortement dans les délais les plus rapides.

Le délai entre la réalisation du prélèvement et l'extraction de l'ADN bactérie doit être **inférieur à 10 jours**.

### **☞ PARATUBERCULOSE**

#### **Fèces :**

Quantité : 50 g. prélevés dans un gant retourné, le tout placé dans un pot hermétique

Transfert du prélèvement rapidement au laboratoire (idéalement en moins de 4 jours calendaires)

**Dans l'attente de son acheminement au laboratoire, le fèces doit être conservé au froid positif ( $\pm 4^{\circ}\text{C}$ ).**

#### **Organes : valvule iléo-caecale, ganglion mésentérique**

Transmis dans un pot hermétique dans les plus brefs délais.

**Dans l'attente de son acheminement au laboratoire, l'organe doit être conservé au froid positif ( $\pm 4^{\circ}\text{C}$ ).**

**Pédichiffonnettes :** A replacer dans son sac après prélèvement.

**Dans l'attente de son acheminement au laboratoire, les Pédichiffonnettes doivent être conservées au froid positif ( $\pm 4^{\circ}\text{C}$ ).**

### **☞ FIEVRE Q : COXIELLA BURNETT**

**Attention, la fièvre Q est une zoonose, des précautions doivent être prises lors de la réalisation et de la manipulation des prélèvements issus de l'avortement.**

#### **Lait :**

Quantité : Un pot à urine de 60 ml

L'ajout d'un comprimé de Bromopol (*fournit par le laboratoire\**) est fortement recommandé pour la conservation du prélèvement.

Transfert du prélèvement le plus rapidement possible au laboratoire en sachant que le délai entre la réalisation du prélèvement et l'extraction de l'ARN viral est de 24 h. pour un lait non traité au Bromopol.

**Avec Bromopol**, le délai entre la réalisation du prélèvement et l'extraction de l'ARN viral doit être **inférieur à 8 jours**.

Dans l'attente de son acheminement au laboratoire, le lait doit être conservé au froid positif.

**(\*) Le matériel nécessaire au prélèvement (pot + Bromopol) est fourni par le laboratoire sur simple demande.**

### **☞ FCO et VIRUS SCHMALLEMBERG**

**Sang sur EDTA :** 1 tube bien rempli et retourné doucement plusieurs fois après prélèvement pour éviter la formation de caillots

Transfert du prélèvement le plus rapidement possible au laboratoire. Le délai entre la réalisation du prélèvement et l'extraction de l'ARN viral doit être inférieur à 10 jours.

Dans l'attente de son acheminement, le tube de sang doit être conservé au froid positif.

Donner avec précision le motif.

## **LEPTOSPIRES PATHOGENES**

**Attention, la leptospirose est une zoonose, des précautions doivent être prises lors de la réalisation et de la manipulation des prélèvements.**

### **Eau et urine:**

Quantité : Un pot à urine de 60 ml

Transfert du prélèvement le plus rapidement possible au laboratoire **sous couvert du froid** (en moins de 24 h).

Dans l'attente de son acheminement au laboratoire, l'échantillon doit être conservé au froid positif.

### **Organes :**

Transmis dans un pot hermétique dans les plus brefs délais, sous couvert du froid (rein, foie).

Dans l'attente de son acheminement au laboratoire, l'organe doit être conservé au froid positif ou congelé.

## **VIRUS INFLUENZA DE TYPE A**

### **Ecouvillons cloacaux, trachéaux et nasaux :**

À prélever à l'aide d'écouvillons VIRO CULT ou à défaut à l'aide d'écouvillons secs stériles sans milieu de conservation pour bactériologie (par exemple, PAS de milieu Amies charbon) ; A transférer au laboratoire dans les 24h sous couvert du froid positif. Sinon congeler les écouvillons à une température inférieure à - 60°C

## **LEGIONELLA SPP ou LEGIONELLA PNEUMOPHILA**

### **Eau :**

Quantité : 1 litre

Transfert du prélèvement le plus rapidement possible au laboratoire sous couvert du froid positif (moins de 24h)