

Laboratoire de Contrôle des Reproducteurs	Référence : AN _{MO} /MO-C03 Version : 05
Mode opératoire	Date de révision : 19/09/2019
Réalisation d'un prélèvement de lavage préputial pour la recherche de <i>Trichomonas foetus</i> et <i>Campylobacter fetus</i>	Page : 1/3

OBJET

Ce mode opératoire décrit la méthode de réalisation d'un lavage préputial sur un taureau et la mise en culture du prélèvement effectué en vue de la recherche de *Trichomonas foetus* et de *Campylobacter fetus*.

DOMAINE D'APPLICATION

Ce mode opératoire est appliqué par :

- ✓ le technicien du service Camionnette-Laboratoire du LNCR (Laboratoire National de Contrôle des Reproducteurs),
- ✓ les vétérinaires

Remarque : Un bon de commande « DA_{EC}/DE-R05 – bon de commande client » doit être établi. Celui-ci est disponible sur le site www.lncr.org, de même que le document « DA_{EC}/IT-R06 – Qualité générale des prélèvements ».

Ce protocole est mis en œuvre dans le cadre de la réalisation des contrôles de Campylobactériose et Trichomonose effectués dans l'unité technique de Microbiologie.

MODE OPÉRATOIRE

1) L'opérateur

L'opérateur/préleveur doit respecter les règles de biosécurité (EPI, désinfection, hygiène...).

2) L'animal

La contention de chaque animal est sous la responsabilité du propriétaire de l'animal (éleveur, CIA, ...).

Pour des raisons de sécurité, l'opérateur/préleveur doit être accompagné d'une personne au minimum.

3) Le matériel

L'opérateur/préleveur utilise une seringue excentrée de 50 ml en plastique sans aiguille à laquelle il soude un bout de cathéter (environ 10 cm) permettant ainsi de prélever le tampon vierge jusqu'au fond du tube (possibilité de mettre jusqu'à deux tampons dans la même seringue) et d'avoir un diamètre compatible pour le raccord avec le tuyau feuille-anglaise. Les seringues sont changées pour chaque animal.

A l'extrémité de cette seringue l'opérateur place donc le tuyau feuille anglaise de diamètre intérieur de 5 mm et de longueur 50 mm. Ces tuyaux feuilles-anglaises peuvent-être changés pour chaque prélèvement ou au maximum tous les deux prélèvements (si la seringue contient deux doses de tampon) ; dans ce cas, prévoir un système de pince ou de clampes pour éviter le reflux dans la seringue entre les deux lavages.

Un cathéter d'insémination fraisé est ensuite placé à l'autre extrémité du tuyau. Celui-ci est obligatoirement changé pour chaque animal.

4) Les milieux

Le personnel du service Milieux & Réactifs du laboratoire fournit pour chaque lavage préputial :

- Un flacon bouché à vis en plastique contenant 32 ml de tampon pH 7,2.
- Un tube en verre contenant 7 ml de milieu SBL pour la réalisation de la phase de transport en vue de la recherche de *Campylobacter fetus*.
- Un tube gradué en plastique contenant 3 ml de milieu Diamond's pour la mise en culture en vue de la recherche de *Tritrichomonas foetus*.

Ces trois milieux doivent être conservés dans une enceinte réfrigérée à 5°C±3°C avant l'ensemencement.

5) La réalisation d'un prélèvement préputial

L'opérateur/préleveur remplit la seringue avec le liquide contenu dans le flacon.

Puis, après avoir connecté le tuyau feuille anglaise au cathéter, puis la seringue au tuyau, introduit l'extrémité du cathéter (pas plus de un tiers) dans le fourreau du taureau en maintenant fermement ce fourreau fermé autour du cathéter avec les doigts.

Il injecte alors le contenu de la seringue à l'intérieur du fourreau, clampes le tuyau et effectue un massage du bas vers le haut (du fourreau aux testicules) afin de répartir le liquide.

Après avoir relâché la pression exercée par le massage et avoir donné un dernier va-et-vient en direction du fourreau, l'opérateur récupère le liquide de lavage dans le flacon à vis par effet de dépression en tirant légèrement le cathéter vers l'extérieur. Il place ensuite le prélèvement à l'abri de la lumière (utilisation d'une petite boîte opaque par exemple) jusqu'à la mise en culture (qui doit avoir lieu 20 minutes maximum après la réalisation du premier prélèvement).

Si ce n'est pas déjà fait, il sera nécessaire de couper les poils du fourreau avant le prélèvement afin que l'extrémité du cathéter ne rentre pas en contact avec des poils pouvant être souillés et ainsi éviter la contamination fécale. Pour cela l'opérateur/préleveur dispose d'une paire de ciseaux spécialisée qui devra être rincée après chaque coupe.

6) La mise en culture

Dans les minutes qui suivent la réalisation du prélèvement (20 minutes maximum), il faut ensemercer les milieux Diamond's et conserver l'écouvillon dans le milieu SBL, à partir du liquide de lavage préputial dans des conditions stériles.

Le restant du liquide de lavage préputial doit être expédié avec tous les autres prélèvements (SBL + Diamond's) au LNCR.

a) Recherche de *Campylobacter*

Cf. chapitre 10) Récapitulatif sur logigramme

b) Recherche de *Trichomonas*

Cf. chapitre 10) Récapitulatif sur logigramme

Remarque-: dans le cadre d'une demande de recherche de *Campylobacter* et/ou *Trichomonas* par la méthode PCR, l'analyse s'effectue à partir du tampon pH (lavage préputial). Le prélèvement doit être expédié au LNCR dans un délai ≤ 5 jours.

7) Les déchets

L'élimination des déchets est de la responsabilité de l'opérateur/préleveur.

8) L'identification du prélèvement

Les prélèvements doivent être clairement identifiés (numéro d'ordre, nom ou numéro de l'animal,...).

9) L'expédition

a) Les documents

Une demande d'analyse doit être établie. Un document type (commémoratif) est disponible sur le site www.lncr.org.

b) Le colis

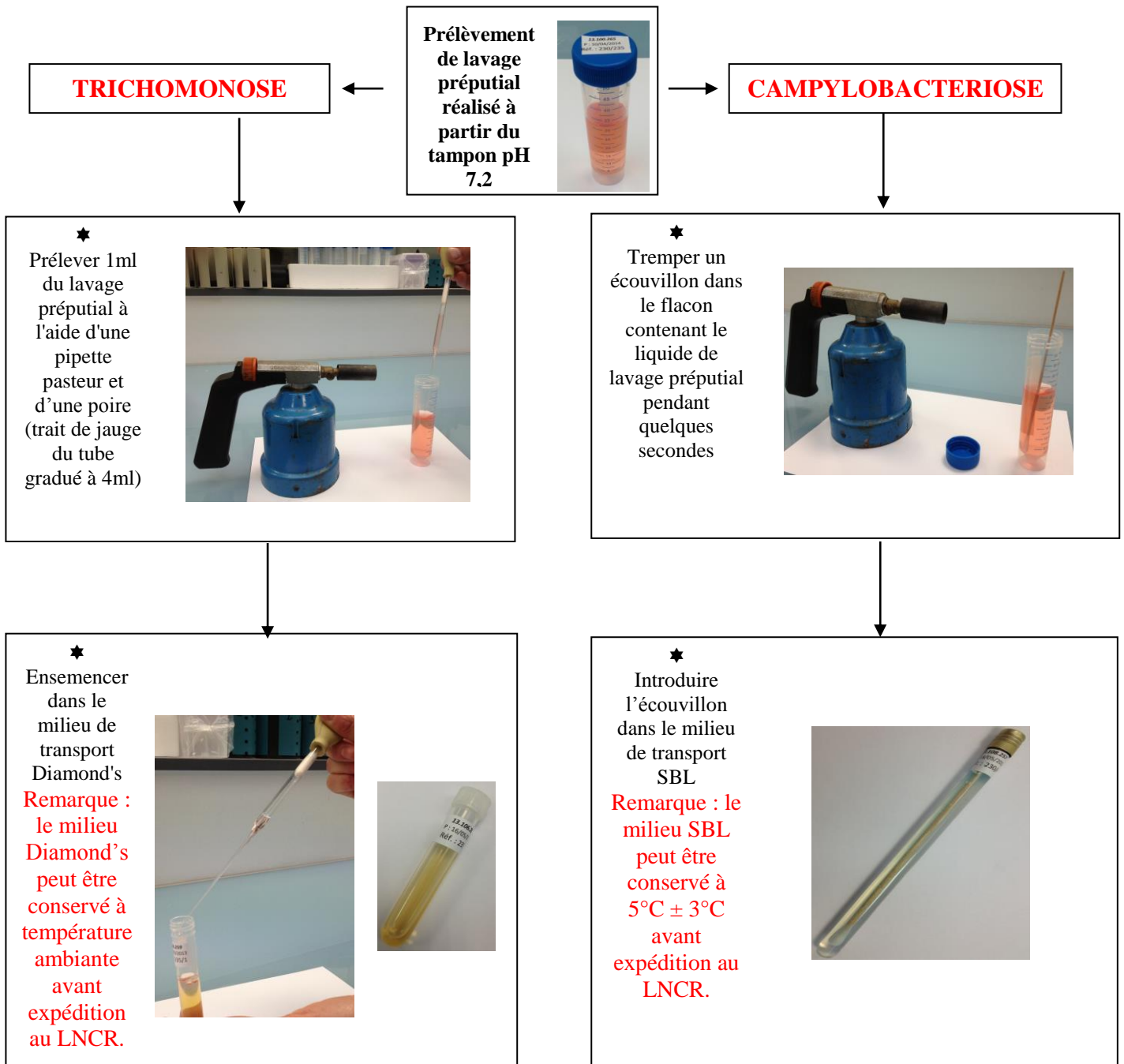
Les prélèvements doivent être correctement conditionnés dans une boîte en polystyrène si possible.

Le colis doit être expédié au laboratoire dans les meilleurs délais.

Les documents ou commémoratifs dûment remplis sont transmis par mail au laboratoire si possible (commemoratif@lncr.org). Une copie de ces documents est toujours associée à l'envoi des prélèvements.

Remarque : les prélèvements peuvent être déposés directement au LNCR par le client.

10) Récapitulatif en photo de la mise en culture du prélèvement



Délai de réception du prélèvement au LNCR :
≤ 24 heures à température ambiante (ou sous couvert de froid si nécessaire (fortes chaleurs)).

Délai de réception du prélèvement au LNCR :
≤ 48 heures à température ambiante (ou sous couvert de froid si nécessaire (fortes chaleurs)).