

REPUBLICQUE DU SENEGAL

MINISTERE DU DEVELOPPEMENT RURAL

DEPARTEMENT DE RECHERCHES SUR LES
PRODUCTIONS ET LA SANTE ANIMALES

INSTITUT SENEGALAIS DE RECHERCHES
AGRICOLAS (I.S.R.A.)

LABORATOIRE NATIONAL DE L'ELEVAGE
ET DE RECHERCHES VETERINAIRES
B.P. 2057

DAKAR - HANN

EX

ZVONS 1112

1112

NOTE TECHNIQUE

TECHNIQUE DES **PRELEVEMENTS** FOUR
ANALYSES **MICROBIOLOGIQUES**

Par Dr **M. KONTE**

REF. N° 061 /MICROBIO.
SEPTEMBRE 1988.

R E S U M E

Note technique à l'attention des agents de l'Elevage dans l'optique de l'harmonisation et de l'amélioration des techniques de prélèvements destinés au diagnostic de laboratoire.

TECHNIQUE DES PRELEVEMENTS POUR ANALYSES
BACTERIOLOGIQUE ET **VIROLOGIQUE**

I. SANG

A. Sang pour préparation de sérum

- **But :**

Sérologie, recherche d'anticorps spécifiques.

- Matériel

"Vacutainer" (ou assimilés) ou seringue stérile, flacons fermant hermétiquement.

- Techniques

- , Recueillir le sang de préférence à l'aide de vacutainer par ponction de la veine jugulaire, à défaut utiliser une seringue préalablement stérilisée ;
- , Laisser le sang coaguler à la température ambiante : 3 à 4 heures ;
- , La rétraction complète durant un repos supplémentaire d'environ 4 heures est souvent facilitée par un décollage à l'aide de fil de fer par exemple ;
- , Recueillir le sérum par décantation dans un flacon bouchant hermétiquement ou mieux après centrifugation ;
- , Inscrire sur le flacon les éléments d'identification ;
- , Conserver les flacons de sérum au réfrigérateur ou au congélateur.

- Expédition

Sous froid (en glacière ou boîte isotherme)

N.B. : Le sérum peut être congelé, mais jamais le sang (risque d'hémolyse).
Joindre une fiche de renseignements,

B. Sang pour hémoculture

- But

Isolement de germes bactériens.

- Matériel

Vacutainer (de préférence) avec anticoagulant ; flacons à bouchon ; un anticoagulant (citrate de soude, héparine.. .), exemple : 3 ml de citrate de soude à 2 % pour 10 ml de sang ; boîte isotherme.

- Technique

- , Faire plusieurs prélèvements espacés de quelques heures (décharge fugace de bactéries dans la circulation) ;**
- , Effectuer les prises de sang en phase d'hyperthermie ;**
- , Prélever 10 à 40 ml de sang par ponction aseptiques à la jugulaire sur animal à jeûn.**

- Expédition

Ne pas congeler. Envoyer sous froid accompagné d'une fiche de renseignements.

I I. ORGANES

A. Organes thoracique et abdominale

- But

Diagnostic des maladies microbiennes par isolement à partir d'organes lésés : poumon, foie, rate, reins, ganglions, coeur.

- Matériel

Couteau désinfecté, flacons stériles à large ouverture fermant hermétiquement, sacs en plastique, réfrigérateur, boîte isotherme.

- Technique

- . Effectuer les prélèvements immédiatement après la mort de l'animal, ne jamais attendre au delà de 6 heures après la mort si ce n'est le cadavre d'un petit animal conservé au froid ;
- . Prélever ganglions, fragment de foie ou de poumon ; coeur et reins restent entiers ;
- . Les placer dans les flacons ou les sacs en plastique, et conserver au réfrigérateur.

N.B. : Toutes les fois que cela est possible, utiliser le cadavre frais d'animaux sacrifiés en période agonique ; prélever dans des conditions aseptiques et utiliser du matériel stérilisé.

- Expédition

Sous froid. Joindre une fiche de renseignements.

B. Cerveau

- But

Diagnostic de la rage.

- Matériel

Couperet, marteau, bistouri ou couteau, gants de caoutchouc, 2 flacons à large ouverture fermant hermétiquement, formol à 12 %, glycérine à 50 %, sparadrap.

- Technique

- , Travailler avec soins pour éviter blessures et contaminations ;
- , Enlever peau et muscle du haut du crâne, faire 3 incisions pour enlever la calotte crânienne (la première en travers du crâne en arrière des yeux, les deux autres de chaque côté du crâne) ;
- , Prélever le cerveau et séparer les deux moitiés ;
- , Mettre une moitié dans un flacon contenant le formol à 12 % et l'autre moitié dans un flacon contenant de l'eau glycinée à 50 % ;
- , Désinfecter soigneusement tout le matériel ayant servi à faire l'autopsie ;
- , Ne jamais congeler les prélèvements.

- Exbédiction

- , Fermer hermétiquement les flacons avec du sparadrap.
- , Placer les flacons dans une boîte rigide contenant de la sciure de bois, du coton, du papier ou du sable.
- , Joindre une fiche de renseignements.
- , Envoyer au laboratoire en indiquant sur l'étiquette "Prélèvement pour diagnostic de la rage".

C. Os long

- But

Diagnostic des charbons et des pasteurelloses.

- Matériel

Couteau, réfrigérateur, boîte isotherme.

- Technique

- . Prélever l'os long d'un des membres, de préférence métacarpe ou métatarse ;**
- . Enlever tous les fragments de chair ;**
- . L'envelopper à sec dans un linge propre ou dans un sac en plastique ;**
- . Conserver au réfrigérateur.**

- Expédition

Si l'os doit voyager longtemps, l'emballer dans du sel ou sous protection du froid ; joindre une fiche de renseignements.

III. PUS

- **But**

Isolement de bactéries ou de virus.

- Matériel

Seringue stérile, tubes ou flacons stérilés bouchant hermétiquement, spatule stérile.

- Technique

, **Abcès ouvert** : procéder par nettoyage de la plaie puis grattage ; réaliser les prélèvements le plus stérilement possible

, **Abcès fermé** : antiseptie cutanée, ponction avec une aiguille de diamètre supérieur à 1 mm.

- Expédition

Envoyer le pus dans la seringue de prélèvement après courbure de l'aiguille, sous froid, ou le déposer dans un tube ou flacon bouchant hermétiquement.

Joindre une fiche de renseignements.

IV. LAIT

- **But**

isolement de bactéries ou de virus.

- Matériel

Tubes à vis, flacons bouchant hermétiquement, stériles, alcool.

- Technique

- . Laver et sécher complètement la mamelle ; aucun liquide ne doit s'écouler sur le trayon ;
- . Prélever séparément les 4 quartiers ;
- . Désinfecter l'extrémité du trayon à l'alcool à 70° ; il est important d'insister sur l'orifice du canal du trayon ;
- . Le flacon stérile est ouvert au dernier moment, le bouchon étant tenu pour protéger le flacon qui restera le plus possible à l'horizontal ;
- . Les premiers jets de lait sont éliminés et 10 ml de lait sont prélevés en évitant de bouger le flacon qui sera immédiatement fermé sans être déplacé.

- Expédition

Sous froid mais non congelé.

Joindre une fiche de renseignements.

V. AVORTEMENTS

- But

Isolement de bactéries ou de virus ; sérologie.

- Matériel

Vacutainer, écouvillons stériles, flacons stériles à large ouverture ou sacs en plastique stériles.

- Technique

- . Prélever du sang pour préparation de sérum (selon la méthode classique) sur la femelle ayant avorté ;
- . Prélever les sécrétions utérines (par écouvillonnage du col utérin), les enveloppes ou fragments d'enveloppes, les avortons ou leurs organes (estomac, rate, os long désarticulé). ;

N.B : Opérer avec soins pour éviter contamination ou propagation du contagé.

- Expédition

Sous froid, congelés. (à l'exclusion du sang) ou non ; joindre une fiche de renseignements,

VI. ECOUVILLONNAGES NASAL ET OCULAIRE

- But

Isolement de bactéries ou virus à tropisme respiratoire (agents de pneumopathies) ou oculaire.

- Matériel

Ecouvillons sur tige en plastique ou en métal, de préférence à tige en bois, matériel de froid.

- Technique

- . Ecouvillonnage : ne pas réaliser le prélèvement au stade jetage muco-purulent ou purulent (le virus éventuel n'est plus retrouvé dans le jetage, et seulement la flore banale bactérienne subsistera en plus de bactéries de surinfection ;
- . Enfoncer l'écouvillon le plus profondément possible dans les cavités nasales.
- . Ecouvillonnage oculaire : introduire l'écouvillon dans le cul-de-sac conjonctival inférieur, sans toucher la face extérieure de la paupière.

- Expédition

Sous froid en évitant tout dessèchement des prélèvements si usage non fait des milieux de transport du genre "portagerm ND" de BioMérieux "T.G.V. ND" de l'Institut Pasteur Production, "culture Pak ND" de Polylabo.

Joindre une fiche de renseignements.

VII. FECES

- But

Isolement de bactérie (Salmonelles, autres entérobactéries bacille de Johne.. .) et de virus (Coronavirus, Rotavirus).

- Matériel

Écouvillons stériles, tubes ou flacons stériles bouchant hermétiquement, gants en caoutchouc stériles.

- Technique

Pour analyses bactériologique : prélèvement dans ampoule rectale ou rectum ou dès leur émission (60 à 80 ml de prélèvement ;

Lors de diarrhée aiguë, prélever dans les heures qui suivent l'apparition des symptômes ;

Ne pas congeler, utilisation parfois de milieu de transport spécial ;

Envoie possible d'anses intestinales ligaturées prélevées en régions les plus liquides ;

Pour analyse virologique, procéder par écouvillonnage rectal ; la congélation est possible ; utiliser un milieu de transport (Hanks).

- Expédition

Sous froid. Joindre une fiche de renseignements.

VIII. URINES

- But

Isolément de bactéries.

- Matériel

Flacons stériles bouchant hermétiquement.

- Technique

Opérer par sondage ou prélever lors de miction après asepties 10 à 20 ml d'urine.

- Expédition

Envoie rapide, sous froid (4°C).

Joindre une fiche de renseignements.

IX. LIQUIDES D'EPANCHEMENT

- But

Prélèvement de liquide pleural, péritonéal, péricardique, pour isolement microbien.

- Matériel

Seringues et flacons stériles.

- Technique

· Lymphes thoraciques : ponction aseptique de la cavité thoracique entre la 7^{ème} et la 8^{ème} côte ; déposer le liquide dans le flacon stérile ;

· Liquide péritonéal : prélever par ponction aseptique dans la cavité abdominale et déposer dans le flacon stérile.

- Expédition : Sous froid. Joindre une fiche de renseignements.

FICHE DE RENSEIGNEMENTS

Le prélèvement doit être impérativement accompagné d'une fiche de renseignements détaillée, établie en 3 exemplaires : un exemplaire est conservé par l'expéditeur, le second est adressé directement au laboratoire par les voies les plus rapides, le troisième est placé dans le colis contenant le prélèvement,

MODELE DE FICHES

N° de référence :

Nom, fonction et adresse de l'expéditeur :

Date et lieu de prélèvement :

Intervalle de temps entre le moment de la mort et celui du prélèvement :

Espèce, sexe, âge de l'animal sur lequel a été effectué le prélèvement :

Nature du prélèvement :

Nature de la recherche demandée :

Résultat de l'examen :

- de l'animal sur lequel a été effectué le prélèvement :

- des autres animaux du troupeau présentant apparemment la même maladie :

Résultat de l'autopsie :

Maladie suspectée :

Effectif du troupeau où a été effectué le prélèvement :

Nombre de malades dans le troupeau à la date du prélèvement (malades actuels) en précisant si.. la morbidité est en relation avec certains facteurs (âge, sexe, etc...)

Nombre de morts dans le troupeau à la date du prélèvement :

Date d'expédition :

Observations (constatations ou renseignements pouvant présenter un intérêt pour l'orientation du diagnostic).

<p>Peste des petits ruminants Ecthyma contagieux</p> <p>Clavelée</p> <p>Fièvres aphteuse</p> <p>Blue tongue Virus à tropisme respira- toi re</p> <p><u>Maladies aviaires</u></p>					<p>Rate Croûtes labiales, muqueuse gingi- vale</p> <p>Croûtes, vésico- pustules</p> <p>Liquide vésicu- laire épithélium lingual et labial</p> <p>Rate Ecouvillonnage nasal pour ense- mencement immé- diat</p> <p>Sujets agonisants cadavres frais entiers</p>
---	--	--	--	--	---