

<b>Laboratoire de Contrôle des Reproducteurs</b>	Référence : AN <sub>MO</sub> /MO-C03 Version : 08
	Date de révision : 12/10/2022
Mode opératoire <b>Réalisation d'un prélèvement de lavage préputial pour la recherche de Trichomonas fœtus et Campylobacter fetus</b>	Page : 1/5

## Sommaire

<i>OBJET</i> .....	2
<i>DOMAINE D'APPLICATION</i> .....	2
<i>DOCUMENTS DE REFERENCE</i> .....	2
<i>DEFINITIONS</i> .....	2
<i>MÉTHODOLOGIE</i> .....	2
<b>1. L'opérateur</b> .....	<b>2</b>
<b>2. L'animal</b> .....	<b>2</b>
<b>3. Le matériel</b> .....	<b>2</b>
<b>4. Les milieux</b> .....	<b>3</b>
<b>5. La réalisation d'un prélèvement préputial</b> .....	<b>3</b>
<b>6. La mise en culture</b> .....	<b>3</b>
a) Recherche de Campylobacter .....	4
b) Recherche de Trichomonas .....	4
<b>7. Les déchets</b> .....	<b>4</b>
<b>8. L'identification du prélèvement</b> .....	<b>4</b>
<b>9. L'expédition</b> .....	<b>4</b>
a) Les documents .....	4
b) Le colis .....	4
<b>10. Les résultats</b> .....	<b>4</b>
<b>11. Récapitulatif en photo de la mise en culture du prélèvement</b> .....	<b>5</b>

Rédacteur	Approbateur
A. CASSAR	K. SAULNIER

Diffusion	
Contrôlée <input checked="" type="checkbox"/> Non contrôlée <input type="checkbox"/>	
Nombre d'exemplaires : 4	Laboratoire (7) – Bibliothèque Qualité

<b>Laboratoire de Contrôle des Reproducteurs</b>	Référence : AN <sub>Mo</sub> /MO-C03 Version : 08
	Date de révision : 12/10/2022
Mode opératoire <b>Réalisation d'un prélèvement de lavage préputial pour la recherche de Trichomonas fœtus et Campylobacter fetus</b>	Page : 2/5

## 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 fœtus 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 en charge du prélèvement

Remarque : Un bon de commande DA<sub>EC</sub>/DE-R05 – Bon de commande client » doit être établi.

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.

## DOCUMENTS DE REFERENCE

- DA<sub>EC</sub>/DE-R05 – Bon de commande client (disponible sur le site [www.lncr.org](http://www.lncr.org).)

## DEFINITIONS

NA

## MÉTHODOLOGIE

### **1. L'opérateur**

Le technicien LNCR ou le vétérinaire qui réalise les prélèvements sont désignés par "l'opérateur/préleveur". 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 clampe pour éviter le reflux dans la seringue entre les deux lavages.

<b>Laboratoire de Contrôle des Reproducteurs</b>	Référence : AN <sub>MO</sub> /MO-C03 Version : 08
	Date de révision : 12/10/2022
<b>Mode opératoire</b>	
<b>Réalisation d'un prélèvement de lavage préputial pour la recherche de Trichomonas foetus et Campylobacter fetus</b>	Page : 3/5

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 contenant 7 ml de milieu SBL pour la réalisation de la phase de transport en vue de la recherche de *Campylobacter fetus*.
- Un tube contenant 10 ml de milieu Diamond's pour la mise en culture en vue de la recherche de *Trichomonas foetus*.

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

NB : Il est de la responsabilité du vétérinaire de conserver au froid le milieu Diamond's pendant la durée de vie du milieu.

#### **5. La réalisation d'un prélèvement préputial**

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.

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 d'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, clampe 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).

#### **6. La mise en culture**

Dans les minutes qui suivent la réalisation du prélèvement (20 minutes au maximum), l'opérateur/préleveurensemence le milieu Diamond's, revenu à température ambiante, avec 1 ml de liquide de lavage préputial dans des conditions stériles.

Tremper ensuite un écouvillon dans le liquide de lavage pendant quelques secondes.

Introduire cet écouvillon dans le milieu de transport SBL.

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

<b>Laboratoire de Contrôle des Reproducteurs</b>	Référence : AN <sub>MO</sub> /MO-C03 Version : 08
Mode opératoire	Date de révision : 12/10/2022
<b>Réalisation d'un prélèvement de lavage préputial pour la recherche de Trichomonas fœtus et Campylobacter fetus</b>	Page : 4/5

a) Recherche de Campylobacter

Cf. chapitre 11. Récapitulatif en photo de la mise en culture du prélèvement

b) Recherche de Trichomonas

Cf. chapitre 11. Récapitulatif en photo de la mise en culture du prélèvement

Remarque-: dans le cadre d'une demande de recherche de *Campylobacter* et/ou *Tritrichomonas* 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  $\leq 5$  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](http://www.lncr.org).

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.

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.

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

## 10. Les résultats

La responsabilité du laboratoire ne saurait être engagée, lorsque les prélèvements sont effectués et inoculés dans le milieu Diamond's par un vétérinaire, selon les instructions définies par le laboratoire.

Les résultats s'appliquent à l'échantillon tel qu'il a été reçu.

**11. Récapitulatif en photo de la mise en culture du prélèvement**

