

| | | |
|---|---|-----------|
| Laboratoire de Contrôle des Reproducteurs Mode opératoire Réalisation d'un prélèvement de mucus vaginal pour la recherche de Trichomonas fœtus et Campylobacter fetus | Référence : AN _{Mo} /MO-C05 Version : 07 | |
| | Date de révision : 12/10/2022 | |
| | Page : 1/5 | Fiche n°1 |

Sommaire

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

| | |
|-----------|-------------|
| 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 |

| | | |
|---|---|-----------|
| Laboratoire de Contrôle des Reproducteurs | Référence : AN _{Mo} /MO-C05 Version : 07 | |
| Mode opératoire | Date de révision : 12/10/2022 | |
| Réalisation d'un prélèvement de mucus vaginal pour la recherche de <i>Trichomonas foetus</i> et <i>Campylobacter fetus</i> | Page : 2/5 | Fiche n°1 |

OBJET

Ce mode opératoire décrit la méthode de réalisation d'un relevé de mucus vaginal sur une génisse ou une vache 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.

DOCUMENTS DE REFERENCE

- ✓ DA_{CM}/DE-R02 : Commémoratif bovin
- ✓ DA_{EC}/IT-R06 - Qualité générale des prélèvements
- ✓ DA_{EC}/DE-R05 - Bon de commande client

DEFINITIONS

NA

MÉTHODOLOGIE

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 un écouvillon stérile de 70 cm (EQUIVET) inséré dans une gaine qui lui permet d'être rétractable avec à l'extrémité un coton hydrophile.

| | | |
|---|---|-----------|
| Laboratoire de Contrôle des Reproducteurs | Référence : AN _{Mo} /MO-C05 Version : 07 | |
| | Date de révision : 12/10/2022 | |
| Mode opératoire | Page : 3/5 | Fiche n°1 |
| Réalisation d'un prélèvement de mucus vaginal pour la recherche de <i>Trichomonas foetus</i> et <i>Campylobacter fetus</i> | | |

Un tube conique stérile d'une capacité de 15 ml sert à contenir la partie rétractable de l'écouvillon une fois le relevé de mucus effectué jusqu'à la mise en culture (c'est un tube d'attente).

Ces deux consommables sont évidemment à usage unique.

4. Les milieux

Le personnel du service Milieux & Réactifs du laboratoire fournit pour chaque prélèvement de mucus vaginal :

- Un tube en plastique contenant 2 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 *Trichomonas 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 vaginal

L'opérateur/préleveur avant toute chose s'assure que la vulve est propre. Un lavage de la vulve peut être nécessaire pour éviter la contamination fécale.

Ensuite l'opérateur/préleveur prend un écouvillon de son emballage stérile. Il lève la queue de l'animal et introduit l'écouvillon dans le vagin jusqu'à sentir une légère résistance.

A ce moment, il fait coulisser l'écouvillon de sa gaine afin de libérer l'extrémité du coton puis il effectue un va-et-vient du coton sur les parois du vagin.

Enfin, il rétracte la partie contenant le mucus vaginal (extrémité du coton) pour que celle-ci ne soit pas en contact avec la vulve en sortant, extrait l'écouvillon de l'animal, saisit un tube en plastique et insère à l'intérieur le prélèvement en cassant la partie rétractable. Le tube est ensuite fermé et identifié.

6. La mise en culture

Dans les minutes qui suivent la réalisation du prélèvement (20 minutes maximum), il faut ensemercer, à partir du tube de tampon où a détrempe la partie cassée de l'écouvillon, les milieux Diamond's et conserver l'écouvillon dans le milieu SBL dans des conditions stériles.

Le restant du tampon pH contenant le mucus vaginal doit être expédié avec tous les autres prélèvements (SBL + Diamond's) au LNCR.

- a) Recherche de *Campylobacter*

Cf. chapitre 10. Récapitulatif en photo de la mise en culture du prélèvement

- b) Recherche de *Trichomonas*

| | | |
|--|---|-----------|
| Laboratoire de Contrôle des Reproducteurs Mode opératoire Réalisation d'un prélèvement de mucus vaginal pour la recherche de Trichomonas foetus et Campylobacter fetus | Référence : AN _{MO} /MO-C05 Version : 07 | |
| | Date de révision : 12/10/2022 | |
| | Page : 4/5 | Fiche n°1 |

Cf. chapitre 10. 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 (mucus vaginal avec l'écouvillon). Le prélèvement doit être expédié au LNCR dans un délai ≤5jours.

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 (commémoratif bovin DA_{CM}/DE-R02) est disponible sur le site www.lncr.org.

b) Le colis

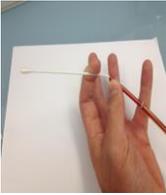
Les prélèvements doivent être correctement conditionnés dans une boîte en polystyrène si possible. Le colis doit être expédié au laboratoire dans les meilleurs délais.

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

★
Casser l'extrémité de l'écouvillon contaminé de mucus vaginal



★
Insérer l'écouvillon dans le tube plastique (d'attente)



TRICHOMONOSE

★
Ensuite, faire tremper l'écouvillon dans le tube de tampon pH 7,2



CAMPYLOBACTERIOSE

★
Prélever 1ml du tampon pH contenant le mucus vaginal à l'aide d'une pipette pasteur et d'une poire



★
Introduire l'écouvillon dans le milieu de transport SBL

Remarque : le milieu SBL peut être conservé à 5°C ±3°C avant expédition au LNCR.



★
Ensemencer dans le milieu de transport Diamond's

Remarque : le milieu Diamond's peut être conservé à température ambiante avant expédition au LNCR



Délai de réception des prélèvements au LNCR :

≤ 24 heures pour la *Trichomonose* et ≤ 48h pour la *Campylobacteriose* à température ambiante (ou sous couvert de froid si nécessaire dans le cas de fortes chaleurs, afin d'être entre 5°C / 37°C)