

L2A 67	Plan Qualité Biologie moléculaire / Virologie	
	Gestion des échantillons	Instruction BMV_ECHdoc

## 1. Technique de biologie moléculaire

### 1.1 Recommandations générales :

**Précautions** : les prélèvements, quels qu'ils soient, sont du matériel biologique, susceptible de contenir des germes éventuellement transmissibles à l'homme. Quel que soit l'échantillon, manipulez-le avec des gants et une protection appropriée, sous un poste PSM, jusqu'à ce que le matériel biologique soit désactivé.

**Concernant les placentas** : lors de pathologies abortives, les placentas peuvent être extrêmement chargés en bactéries ou virus. Il faut donc considérer chaque échantillon comme positif pour d'une part protéger le manipulateur et d'autre part ne pas risquer une contamination du laboratoire.

**Conservation** : Les lyses enzymatiques et bactériologiques sont ralenties avec le froid. N'importe quel prélèvement pour analyse nécessite une conservation à 4°C environ. Les prélèvements doivent être envoyés le plus rapidement possible au laboratoire, dans un délai qui de préférence n'excède pas 48H et sous régime du froid.

**Prélèvement** : La PCR est une technique visant à rechercher la présence du pathogène en question et non les conséquences de son passage. Le prélèvement doit donc être effectué au niveau des tissus (partie nécrosée ou qui semble atteint par le pathogène) ou liquides biologiques où le microorganisme est présent, ou se multiplie.

### 1.2 Quel prélèvement pour quel pathogène ?

Pathogène	Type de matrice	Condition de prélèvement	quantité	Conservation	Remarques
<b>PPC/ PPA</b>	Rate, amygdales		Organe entier de préférence	<15 jours à 5°C±3°C	. Enquête DDPP, prélèvement réalisé sur animal mort de moins de 24h . Manipulation en P3 Analyse également possible sur sang ou sérum (2ml) et écouvillons de sang (uniquement PPA)
<b>BVD</b>	. Sang total . Sérum . Lait  . Tissus : rate, placenta, écouvillon . Cartilage auriculaire	. Tube EDTA . Tube sec . Avec ou sans bronopol  . Boucle	. 2ml . 2 ml . 10 ml  . Organe entier de préférence ou avorton	. <15 jours à 5°C±3°C . <4 jours à 5°C±3°C . <7 jours avec bronopol et 2 jours sans bronopol à 5°C±3°C . <2 jours à 5°C±3°C ou congélation à <-16°C . congélation à <-16°C	Rupture de la chaîne du froid possible durant le transport
<b>FCO</b>	. Sang total  . Rate	. Tube EDTA	. 2 ml  . Organe entier de préférence	. <10 jours à 5°C±3°C . <2 jours à 5°C±3°C ou congélation à <-16°C	

L2A 67

Plan Qualité  
Biologie moléculaire / Virologie

Gestion des échantillons

Instruction  
BMV\_ECHdoc

Pathogène	Type de matrice	Condition de prélèvement	quantité	Conservation	Remarques
<b>Schmallenberg</b>	. Sang total . Sérum  . encéphale, rate	. Tube EDTA . Tube sec	. 2 ml . 2 ml  Organe entier de préférence	. <15 jours à 5°C±3°C . <4 jours à 5°C±3°C . <2 jours à 5°C±3°C ou congélation à <-16°C	
<b>Fièvre (coxiella burnetti)</b>	<b>Q</b> . écouvillon vaginal, placentaire, cervical  . mucus vaginal ou liquide fœtal  . lait  . organe, placenta	. écouvillon sec  . tube stérile  . avec bronopol	. 2 ml  . 2 ml  . Organe entier de préférence ou avorton	. dans les 24h à 5°C±3°C ou congélation à <-16°C de l'éluât après élution . <8 jours à 5°C±3°C ou congélation à <-16°C . <8 jours à 5°C±3°C . <2 jours à 5°C±3°C ou congélation à <-16°C	
<b>Chlamydoxyla abortus</b>	. écouvillon vaginal, placentaire, cervical	. écouvillon sec		. dans les 24h à 5°C±3°C ou congélation à <-16°C de l'éluât après élution . <8 jours à 5°C±3°C ou congélation à <-16°C	

<b>L2A 67</b>	<b>Plan Qualité</b> <b>Biologie moléculaire / Virologie</b>	
	<b>Gestion des échantillons</b>	Instruction BMV_ECHdoc

<b>Chlamydomydia abortus (suite)</b>	. mucus vaginal ou liquide fœtal  . lait  . organe, placenta	.tube stérile  . avec bromopol	. 2 ml  . 2 ml  . Organe entier de préférence ou avorton	. <8 jours à 5°C±3°C . <2 jours à 5°C±3°C ou congélation à <-16°C	
<b>Néospora caninum</b>	. encéphale . cœur .placenta		. Organe entier de préférence ou avorton	<8 jours à 5°C±3°C ou congélation à <-16°C	
<b>Toxoplasma gondii</b>	. encéphale . cœur .placenta		. Organe entier de préférence ou avorton	<8 jours à 5°C±3°C ou congélation à <-16°C	
<b>Leptospirose</b>	. urines . sang . sérum . eau . organes : rein, foie, cœur	. Flacon stérile . Tube EDTA . Tube sec . Flacon stérile	. 20 ml . 2 ml . 2 ml . 50 ml . Organe entier de préférence ou avorton	. <8 jours à 5°C±3°C	Bactéries très fragiles
<b>Anaplasma phagocytophilum (ehrlichiose)</b>	. sang total . rate	. tube EDTA . organe	. 2 ml . Organe entier de préférence ou avorton	. <4 jours à 5°C±3°C . <2 jours à 5°C±3°C ou congélation à <-16°C	
<b>Mycobacterium paratuberculosis</b>	. fèces		. 10 g	<8 jours à 5°C±3°C ou congélation à -16°C	

L2A 67

Plan Qualité  
Biologie moléculaire / Virologie

Gestion des échantillons

Instruction  
BMV\_ECHdoc

Pathogène	Type de matrice	Condition de prélèvement	quantité	Conservation	Remarques
<b>Mycobacterium Tuberculosis</b>	. nœuds lymphatiques		. 5g	24 h à 5°C±3°C ou congélation à -16°C	
<b>RSV / PI3</b>	. aspiration Trans-trachéale et lavage broncho-alvéolaire . poumon  . écouvillon trachéal et nasal	. tube stérile      . écouvillon sec	. 1ml    . Organe entier de préférence ou avorton	. <8 jours à 5°C±3°C   . 24 h à 5°C±3°C ou congélation à -16°C  . <8 jours à 5°C±3°C	
<b>Mycoplasma bovis</b>	. liquide trachéo-bronchiques . lait  . poumon	. tube stérile  . tube stérile avec ou sans bronopol	. 1 ml  . 1 ml  . Organe entier de préférence ou avorton	. <8 jours à 5°C±3°C  . <8 jours à 5°C±3°C  . <8 jours à 5°C±3°C ou congélation à -20°C	
<b>Tularémie</b>	. rate		. organe entier de préférence	<8 jours à 5°C±3°C ou congélation à -20°C	

<b>L2A 67</b>	Plan Qualité Biologie moléculaire / Virologie	
	<b>Gestion des échantillons</b>	Instruction BMV_ECHdoc

Pathogène	Type de matrice	Condition de prélèvement	quantité	Conservation	Remarques
<b>Influenza porcine</b>	. écouvillons nasaux . poumon	. écouvillon sec	. porcs différents . organe entier de préférence	24h à 5°C±3°C ou congélation à -70°C	Manipulation en P3
<b>Influenza aviaire</b>	. écouvillon trachéal et cloacal	. écouvillon avec milieu liquide type virocult ou écouvillon sec	. les 2 points de prélèvements	24h à 5°C±3°C ou congélation à -70°C	Manipulation en P3
<b>Pseudorabies virus ( Maladie d'Aujeszky)</b>	. tissu (poumon, amygdale, ganglion) . encéphale . écouvillon . surnageant de culture	. écouvillon avec milieu liquide type virocult ou écouvillon sec	Organe entier de préférence	Tissus et écouvillons nasaux 1à 2 jours à +2/8°C sinon conservation à <-15°C	Manipulation en P3

## 2. Technique de séroneutralisation virale

- **Sérum :**

Prélever sur tube sec ou à séparateur de phases

La qualité physico-chimique du sérum doit être compatible avec l'analyse. L'échantillon sera refusé :

- Si l'hémolyse est trop importante, lors de la décomplémentation le sérum va se figer rendant l'analyse impossible.
- Si la turbidité de l'échantillon est trop importante, la présence excessive de lipides va interférer et modifier l'affinité de certaines liaisons antigène-anticorps faussant ainsi le résultat. De plus la présence de lipide entraîne des difficultés de lecture pour le ECP.

<b>L2A 67</b>	<b>Plan Qualité</b> <b>Biologie moléculaire / Virologie</b>	
	<b>Gestion des échantillons</b>	Instruction BMV_ECHdoc

- Si la couleur est très brunâtre avec une odeur de pourrie

Il est recommandé de décomplémenter le sérum à 56°C +/-1°C pendant 30 min avant analyse PPC/PPA

Conservation 72h maximum à 5°C +/- 3°C centrifugé et sans caillot. Sinon congélation à ≤ -16°C (sans caillot)

### 3. Critères d'acceptation

<b>Anomalie rencontrée</b>	<b>Solution</b>
<p><b>Prélèvement</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• L'échantillon est cassé ou tube(s) manquant(s)</li> <li>• Le prélèvement n'est pas adapté pour les analyses demandées</li> <li>• La quantité n'est pas suffisante pour réaliser toutes les analyses</li> <li>• La qualité physico-chimique de l'échantillon est altérée (couleur, odeur, consistance)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Remplir une fiche INFO_DEM.dot ou le noter sur la demande</li> <li>• Remonter l'information au niveau des résultats.</li> <li>• Remplir une fiche REFUS.dot</li> <li>• Remplir une fiche INFO_DEM.dot, enregistrer l'échantillon et remonter l'information au niveau des résultats (modifier ITP), informer si possible le vétérinaire par téléphone</li> <li>• Remplir une fiche INFO_DEM.dot, enregistrer l'échantillon et remonter l'information au niveau des résultats (modifier ITP), informer si possible le vétérinaire par téléphone</li> </ul>

<b>L2A 67</b>	<b>Plan Qualité</b> <b>Biologie moléculaire / Virologie</b>	
	<b>Gestion des échantillons</b>	<b>Instruction</b> <b>BMV_ECHdoc</b>

<p><b>Renseignements des documents d'accompagnement :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Le motif de l'examen et/ou les analyses demandées ne sont que partiellement ou pas du tout renseignés (ex. : BVD, âge des animaux)</li> <li>La date de prélèvement n'est pas mentionnée</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Téléphoner ou envoyer la demande au vétérinaire ou au GDS pour avoir l'information nécessaire. Joindre au dossier la fiche INFO_DEM.dot ou une copie de la demande renseignée. Les prélèvements sont mis en attente</li> <li>Téléphoner au vétérinaire si export sigal ou mentionner dans la partie prélèvement « pas de date de prélèvement »</li> </ul>
<p><b>Identification des prélèvements</b></p> <p>Echantillon(s) non identifié(s) dans un dossier ou numéro incomplet</p>	<p>Téléphoner au vétérinaire, DDPP ou au GDS et remplir une fiche INFO_DEM.dot avec confirmation attestant que le prélèvement correspond bien à la demande.</p>

#### 4. Gestion des échantillons

Les échantillons sont stockés à leur arrivée dans le réfrigérateur de la salle de tri (ou congélateur du P2+/P3 si nécessaire). Pendant et après analyse, ces derniers sont stockés soit dans le réfrigérateur du P2+ (analyses en cours) soit au P3 (ou congélateur du P2+/P3 si nécessaire). Après validation juridique du dossier, les échantillons sont éliminés selon la procédure dans des bacs jaunes éliminés ensuite par un transporteur spécialisé.

Pour les échantillons de biologie moléculaire/ virologie aucune sérothèque ou garde d'échantillons est mise en place.

Rédaction		Validation		Vérification	
Nom:		Nom:		Nom:	
Fonction:		Fonction:		Fonction:	