

2.3. Prélèvement du lait de vache

2.3.1. Préparation du matériel

Matériel de base

- alcool éthylique ou isopropylique 70 % et 95 % (dans une bouteille à large ouverture, dans un flacon avec vaporisateur ou en petits sachets à usage unique);
- gants stériles jetables de grandeur appropriée;
- grands sacs de plastique résistants;
- contenants appropriés stériles (utiliser toujours des contenants propres, secs, stériles, assez grands pour les unités d'échantillonnage prélevées);
- seringues ou pipettes appropriées;
- écouvillons et milieu de transport stériles;
- étiquettes de prélèvement;
- glacières propres;
- glace commerciale ou équivalent;
- marqueurs indélébiles permanents;
- thermomètre;
- bouteille d'eau témoin de température.

Formulaires Nécessaires

- Demande de service analytique (demande d'analyse électronique) ou l'aversion papier (formulaire procès-verbal de prélèvement)
- tout document à annexer à la demande d'analyse, selon le plan de surveillance.

Valise de prélèvement

Toujours conserver votre valise propre et en bon état. Idéalement, séparer la papeterie du matériel de prélèvement. Ne transporter que le matériel nécessaire à quelques jours d'inspection lorsque vous ne pouvez pas vous réapprovisionner chaque jour.

Assurez-vous de posséder tout le matériel nécessaire à vos activités.

Tenue personnelle

En tout temps, dans les aires de préparation, l'inspecteur doit porter une chemise, un pantalon, un sarrau boutonné et des souliers ou bottes propres et présenter une hygiène personnelle adéquate. Porter une résille pour les cheveux et la barbe, selon le cas. Se débarrasser des bagues et des montres, se laver soigneusement les mains. Ceci est particulièrement important lors de l'échantillonnage.

Techniques de prélèvement

Site de prélèvement : Il faut bien choisir le site de prélèvement (la Ferme).

Prélèvement de lait cru de vache

Les résultats non conformes peuvent provenir des échantillons analysés dans le cadre du programme de contrôle de la qualité du lait cru de vache, de chèvre prélevés à la ferme (CQL) pour les paramètres suivants :

- Numération des bactéries aérobies mésophiles ;
- Numération des cellules somatiques ;
- Cryoscopie ;
- Dépistage des substances antimicrobiennes.

Procédures de prélèvement

L'échantillon est prélevé dans une canette bleue ensachée. La canette est réputée aseptique mais pas stérile. Ne pas utiliser la canette si le sachet est déchiré, ni si le couvercle est ouvert

PRÉLÈVEMENT DANS UN BASSIN

1. Faire agiter le lait contenu dans le bassin de la ferme pendant 5 minutes.
2. Se laver les mains ainsi que la tige de prélèvement à l'eau chaude savonneuse. Rincer les mains et la tige de prélèvement à l'eau chaude et les assécher avec une serviette de papier propre, à usage unique. Déposer la tige de prélèvement sur une serviette de papier propre et la laisser en attente jusqu'à l'étape 6.
3. Ouvrir l'emballage du côté du couvercle et laisser le contenant dans son emballage jusqu'au moment du prélèvement.
4. Tout en laissant le contenant dans son emballage, soulever le contenant du côté du couvercle hors de l'emballage et identifier le contenant en collant l'étiquette avec le code à barres du numéro CCL (numéro du Conseil canadien du lait) du producteur dans le sens de la flèche sur le couvercle.
5. Briser le premier scellé du contenant tout en laissant le contenant dans son emballage. Refermer le couvercle sans mettre le deuxième scellé.
6. Le contenant est prêt pour le prélèvement pour le laboratoire Valacta.
7. Faire le prélèvement en plongeant le contenant dans le lait du bassin, ouverture en premier, et remonter en faisant un arc de cercle vers l'avant, pour remplir le contenant.
8. Vider l'excès de lait dans le bassin à la ferme jusqu'au trait de 50 ml (le trait le plus près du couvercle).

PRÉLÈVEMENT DANS UN SILO À LAIT

9. Faire agiter le lait contenu dans le silo de la ferme pendant 5 minutes.
10. Se laver les mains à l'eau chaude savonneuse. Se rincer les mains à l'eau chaude et les
11. assécher avec une serviette de papier propre, à usage unique.
12. Sur le septum du silo à lait, vérifier la présence d'au moins un site d'échantillonnage intact, n'ayant jamais été utilisé (certains septums contiennent 7 sites utilisés en rotation pour l'échantillonnage).

Techniques de prélèvement

.....
.....

Techniques de prélèvement

Les techniques d'échantillonnage du lait pour l'analyse bactériologique sont résumées dans les étapes suivantes :

Étape 1

Après avoir enfilé des gants et lavé les trayons avec une serviette propre, tirez quelques jets de lait dans une tasse-filtre pour réduire le nombre de bactéries dans le canal du trayon.

Étape 2

Désinfectez tout le trayon à l'aide d'un tampon imbibé d'alcool.

Étape 3

Nettoyez à fond l'extrémité du trayon avec un nouveau tampon propre imbibé d'alcool. Répétez, si nécessaire, jusqu'à ce que le tampon reste propre.

Étape 4

Désinfectez les trayons selon l'ordre indiqué : le plus près de vous en dernier pour éviter de le contaminer avec le poignet ou la manche.

Étape 5

Enlevez le bouchon du tube en le tenant avec l'auriculaire. Le bouchon doit être tenu pour que l'intérieur soit tourné vers le sol.

Étape 6

Sans toucher au trayon avec le tube, prélevez du lait dans le tube incliné presque horizontalement pour éviter une contamination par des particules de fumier ou de litière.

Étape 7

Pour un échantillon composite, prélevez une quantité égale de lait de chacun des quatre trayons. Après avoir rempli le tube (maximum au 3/4), remettez le bouchon en place.

Étape 8

Faire tremper tout le trayon dans un désinfectant.

Étape 9

Inscrivez sur le tube : la date, le no de la vache, le quartier échantillonné et la raison de l'échantillonnage. Utilisez un marqueur indélébile. Désinfectez le tube et remplissez plusieurs échantillons.



Étape 10

Refroidissez rapidement l'échantillon en le déposant sur de la glace au fond d'une glacière ou au réfrigérateur. L'envoi au laboratoire doit être fait rapidement. Sinon, congelez l'échantillon immédiatement.

Étape 11

Le médecin vétérinaire doit autoriser la demande d'analyse faite au laboratoire. Un formulaire complété doit accompagner les échantillons.

Conservation de l'échantillon:

Réfrigération : $T^{\circ} < 4^{\circ}\text{C}$ – maximum 24 h.
Congélation* : $T^{\circ} < -20^{\circ}\text{C}$ – maximum 1 mois.

Le transport des échantillons

Le transport des échantillons est sous la responsabilité du préleveur puis du coursier jusqu'à l'arrivée au laboratoire, ensuite sous celle du biologiste responsable du service de biologie. La manipulation et la conservation des échantillons sont sous la responsabilité des techniciens.

Le milieu de transport approprié et le contenant à utiliser ainsi que le délai et les conditions de conservation et de transport des échantillons doivent être documentés.

Les milieux de transport sont conçus pour préserver et maintenir l'intégrité de l'échantillon pour la période qui s'écoule entre la collecte et le traitement par le laboratoire.

La conservation et le transport des échantillons de microbiologie sont souvent cruciaux pour la qualité de l'analyse.

Le technologiste médical qui travaille en microbiologie ou qui effectue les prélèvements devrait connaître les conditions d'utilisation des différents milieux de transport, les limitations qui s'appliquent et les interférences possibles.

Les points qui suivent décrivent les critères d'utilisation pour différents milieux de transport.

Milieux de transport pour les techniques de mise en culture

Afin de permettre l'isolement des germes recherchés, il est impératif d'assurer la viabilité des organismes durant le transport pour les échantillons de microbiologie destinés à la culture.

Particularités concernant les virus

Les milieux de transport pour virus sont conçus pour prévenir le dessèchement, maintenir la viabilité des cellules durant le transport et prévenir la surcroissance des bactéries contaminantes.

Notes :

- Les milieux de Hanks ou de Eagle avec inhibiteurs sont le plus souvent utilisés.
- Les milieux de transport utilisés pour le prélèvement bactériologique sont inadéquats pour les virus et pour le *Chlamydia*.
- Un milieu au sucrose-phosphate-glutamate contenant une solution d'albumine bovine (BSA=bovine serum albumin) est fréquemment utilisé comme milieu de transport pour le *Chlamydia*, *Mycoplasma* et *Rickettsia*.

Particularités concernant les champignons

Le délai de transport n'est pas un facteur critique pour la survie des champignons dans les échantillons cliniques.

De façon générale, il est suggéré de conserver au sec les échantillons secs (cheveux, squames, etc.)

Techniques de prélèvement

et d'ajouter quelques gouttes de sérum physiologique afin de conserver l'humidité des petits échantillons humides (p. ex. : les biopsies, etc.)

Milieus de transport pour la biologie moléculaire

L'intégrité du marqueur recherché doit être maintenue durant le transport au laboratoire.

Les fabricants de sondes génétiques et de systèmes d'amplification (PCR, etc.) recommandent ou fournissent généralement l'écouvillon et le milieu de transport spécifique à utiliser pour les échantillons analysés au moyen de leur système d'analyse.

Le milieu de transport approprié et le contenant à utiliser ainsi que le délai et les conditions de conservation et de transport des échantillons doivent être documentés.

Les milieux de transport sont conçus pour préserver et maintenir l'intégrité de l'échantillon pour la période qui s'écoule entre la collecte et le traitement par le laboratoire.

La conservation et le transport des échantillons de microbiologie sont souvent cruciaux pour la qualité de l'analyse.

Le technologiste médical qui travaille en microbiologie ou qui effectue les prélèvements devrait connaître les conditions d'utilisation des différents milieux de transport, les limitations qui s'appliquent et les interférences possibles.

Techniques de prélèvement

Conservation des échantillons

- Les échantillons prélevés doivent être clairement identifiés. Chaque flacon doit porter une étiquette indiquant :
 - nom de l'opérateur qui a effectué les prélèvements ;
 - site du prélèvement ;
 - lieu et la nature ;
 - mode de prélèvement (ponctuel ou moyen 24 heures, proportionnel au débit ou au temps) ;
 - date et heure (du début de prélèvement) et durée ;
 - des informations sur une éventuelle technique de conservation de l'échantillon.
 - Émettre un bulletin d'accompagnement de ces échantillons pour préciser les analyses à réaliser par le laboratoire. Y noter le volume (un débit, un nombre de bennes...) ayant transité sur la station durant la période de prélèvement.

Dans le cas général, les échantillons prélevés doivent impérativement être **conservés** au froid (+ 2 à + 5 °C) et à l'abri de la lumière, y compris pendant leur transport vers le lieu d'analyse.

Pour plus de détails, se référer à la norme ISO 5667-3 (30 pages) qui donne, en fonction des paramètres à analyser, les conditions de conservation recommandées... Le tableau 1 donne toutefois des conseils pour les analyses les plus courantes.

Conservation avant analyse (mais après centrifugation éventuelle)

	<i>Lieu de stockage</i>	<i>Conditions de conservation</i>
Analyses rendues à J0 Cas habituel (analytes stables)	Paillasse (8h)	Température ambiante (18-25°C) Tubes sur portoirs
Analytes peu stables : VS, CPK, PCT	Idem si délai < 4h Réfrigérateur si délai > 4h	+ 4°C
Chlamydia, Mycoplasme	A réfrigérer après prélèvement	+4°C
NB : Cf. guide laboratoire spécialisé pour analyses spécialisées		
Analyses rendues à J1 et plus : ASLO, Latex-WR, MNI, BW, WRIGHT, IgE Totales, ACADN, ACAN, ACCCP, Triple substrat, ACENDO... Envois réfrigérés Envois congelés, Facteurs	Réfrigérateur si délai < ou = J1 Congélateur si délai > J1 (ou WE)	+2°C à +8°C -20°C Tubes primaires ou aliquots
	Réfrigérateur Congélateur	+2°C à + 8°C -20°C
Echantillons Bactériologie	Paniers secteur Bacterio	Température ambiante
Echantillons parasitologie	Paniers secteur Bacterio	TA : 2h / 2-8°C : 12h (Sauf amibes prise en charge immédiate)
Echantillons naso ou oro-pharyngés Covid	Secteur Biologie moléculaire	8h à TA Réfrigéré 24h et congelé si > 24h
HPV	Secteur Biologie moléculaire	6 mois TA

Techniques de prélèvement

Conservation après analyse :

<i>Sérothèques Prélèvements sanguins</i>	<i>Lieu de stockage</i>	<i>Conditions de conservation</i>
- Sérologies virales, bactériennes et parasitaires, - B-HCG positives - Marqueurs tumoraux	Congélateurs sérothèque	1 an (réglementaire pour sérologies et marqueurs tumoraux) -20°C

<i>Prélèvement Bactériologie (échantillons)</i>	<i>Lieu de stockage</i>	<i>Conditions de conservation</i>
ECBU	Réfrigérateur de bacterio	48 heures 2-8°C
Cytologies urinaires	Réfrigérateur de bacterio	48 heures 2-8°C
Ecouvillons	Boîtes notées J1 et J2 et panier J3 dans réfrigérateur de bacterio	48 heures 2-8°C
Expectorations, ponctions, pus, selles,...	Réfrigérateur de bacterio	Jusqu'à clôture du dossier 2-8°C
Echantillons parasitologie	Paillasse bactério Réfrigérateur de bactério	Ech. Negatif : 2j à TA Ech. Positif : culot servisol 1an à 2-8°C
Milieux Covid	Congélateur Biologie moléculaire	Si POS : 3 mois Si NEG : 2jours
HPV	Chambre froide	1 semaine ou sous-traitance (envoi frottis)

<i>Prélèvement Bactériologie (milieu de culture)</i>	<i>Lieu de stockage après fin d'incubation</i>	<i>Conditions de conservation</i>
ECBU	paillasse lecture J1 ECBU	3 jours à température ambiante
Autres prélèvements	paillasse lecture J1 autres prélèvements	3 jours à température ambiante

