



MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

FACULTE DES SCIENCES AGRO-VETERINAIRES
DEPARTEMENT DES SCIENCES VETERINAIRES

PROJET DE FIN D'ETUDES
EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLOME DE DOCTEUR VETERINAIRE

THEME

**Etude bibliographique :
METHODES DE PRELEVEMENT ET DIAGNOSTIC DU LABORATOIRE
EN MEDECINE VETERINAIRE**

**Présenté par : M^{lle} MANI ASMA
M^{lle} NAMANI ZINEB**

Les membres du jury:

Dr MERDJA
Dr BOUNAR- KHECHIH S
Dr KHALED H

MAA
MAA
MAA

Président
Promoteur
examineur

Année universitaire: 2010-2011

Remerciements

*Nous Remercions **ALLAH** le miséricordieux le tous puissant qui nous à guider et éclairer notre chemin.*

Nous adressons nos remerciements au :

*Docteur **BOUNAR- KECHIH Saliha** en premier lieu pour sa disponibilité, sa gentillesse, son amabilité qui lui ont valus le respect et la sympathie de tous les étudiants.*

Aux membres du jury d'avoir accepté l'examination de ce modeste travail.

Nous exprimons nos profondes reconnaissances et nos remerciements les plus sincères à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Zineb et Asma

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à ceux qui m'ont soutenu, m'ont encouragé durant toute ma période d'étude, et pour leurs sacrifices consentis. A ceux qui ont toujours voulu que je sois la meilleure : A ma mère et mon père.

A mes chers frères et sœurs

A tous mes chers amis

A Tous Mes enseignants tout au long de mes études.

A tous les étudiants de ma promotion

A tous ceux ou celles qui me sont chers

ZINEB

Dédicaces

Rien n'est beau à offrir que le fruit d'un labeur qu'on dédie du fond du cœur à ce qu'on aime et qu'on remercie en exprimant la gratitude et la reconnaissance durant toute notre existence.

Je dédie ce modeste travail à mes très cher parent et grand parent.

-à mon cher frère Mohamed.

-à mes cher sœur : Kheira, khalida, imene ,karima et toute Cheifaa assodour.

-à toute Zineb el ghazali.

-à ma sœur Imane.

-à mes frères : Ali, Abdelmadjid.

-à mon binome : Zineb et sa famille.

-à mes tentes : nacira,fatima,karima, taos, chahra, amina ,malika,hanane

-à mes oncles :Amri, Boualame,Rabeh ,Mohamed,Toufik

-à tout les membres de QNET.

-à tout les membres de scout musulment algerien.

-à mes cousines :khadidja, Salma, Afafe, Hadjer.

-à toute la famille MANI et BENMAHFOUD.

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

| | |
|---|---|
| Introduction..... | 1 |
| Chapitre I : Généralités | |
| 1. Définition..... | 2 |
| 2. Pourquoi réaliser des examens complémentaires ? | 2 |
| 3. Objectifs..... | 2 |
| 4. Types de prélèvements..... | 2 |
| 5. Règles à suivre lors de prélèvements de spécimens..... | 3 |
| 6. Les prélèvements destinés à une recherche bactériologique | 3 |
| 7. Les prélèvements destinés à une recherche virologique | 3 |
| 8. Prélèvements destinés à une culture anaérobie | 4 |
| 9. Le choix de l'échantillon..... | 4 |
| 10. La taille de l'échantillon..... | 4 |
| 11. Le choix de l'anticoagulant et de tube (sang)..... | 5 |
| 12. Emballage..... | 5 |
| 13. Délai de transport et conservation des échantillons | 6 |
| 14. Milieu de transports..... | 7 |
| 15. Fiche commémorative..... | 7 |
| 16. Condition de transport..... | 7 |
| 17. Les sources d'erreur..... | 7 |
| 18. Echantillons qui ne peuvent être acceptés pour analyse microbiologique..... | 7 |

Chapitre II : Les prélèvements chez les bovins

| | |
|---|----|
| 1. le prélèvement de sang..... | 8 |
| a. En bactériologie | 8 |
| b. En pathologie virale..... | 8 |
| c. En parasitologie..... | 9 |
| d. Les analyses..... | 9 |
| d.1.Les méthodes directes..... | 9 |
| d.1.1Agents pathogènes retrouvés dans le sang..... | 9 |
| d.2.Méthodes indirectes..... | 10 |
| d.2.1. Affection possibles de détection par sérodiagnostic..... | 10 |
| 2. Le prélèvement d'urine..... | 10 |
| a. Récolte d'urine par sondage..... | 10 |
| b. Bactériologie urinaire..... | 11 |
| 3. Le prélèvement de fèces | 11 |
| a. Prélèvement pour analyses bactériologiques..... | 11 |
| b. Prélèvement pour analyses parasitologiques..... | 12 |
| c. Bactériologie..... | 12 |
| d. Virologie..... | 13 |
| e. Examen parasitologique des selles..... | 13 |
| 4. le prélèvement de lait | 13 |
| a. Prélèvement pour analyses bactériologiques..... | 13 |
| b. Prélèvement pour analyses sérologiques | 14 |
| e. Examen directe | 14 |
| f. Culture | 14 |
| 5. Le prélèvement de placenta et fœtus | 14 |
| a. Prélèvement pour analyse bactériologique | 14 |
| b. Bactériologie..... | 15 |
| d. Virologie | 15 |
| e. Parasitologie..... | 15 |
| 6. le prélèvement de sécrétion bronchique | 15 |
| a. Ecouvillonnage nasal profond..... | 15 |
| b. Lavage broncho-alvéolaire | 16 |
| c. L'échantillonnage | 16 |
| d. Bactériologie | 16 |
| e. Etude virologique | 17 |
| 7. le prélèvement de jus de rumen..... | 17 |
| a. Examen bactériologique | 17 |
| 8. le prélèvement de tégument | 17 |
| a. Raclage cutané | 18 |
| b. Peignage..... | 18 |

| | |
|--|----|
| 9. le prélèvement d'organes | 18 |
| a. La biopsie pulmonaire | 18 |
| 10. prélèvement du liquide pleural..... | 18 |
| 11. prélèvement de liquide péricardique | 18 |
| a. Examen bactériologique | 19 |
| 12. prélèvement de liquide synovial..... | 19 |
| a. Examen bactériologique | 19 |
| 13. Prélèvement du liquide céphalorachidien | 19 |
| a. Examen bactériologique..... | 19 |
| b. Examen parasitologique..... | 19 |
| Chapitre III- Les prélèvements en aviculture | |
| 1. le prélèvement sanguin | 20 |
| 2. Ecouvillon cloacal | 21 |
| 3. Prélèvement de fèces | 22 |
| 4. Ecouvillon trachéal | 22 |
| 5. Ecouvillon de la fente palatine..... | 23 |
| 6. Ecouvillon conjonctival | 23 |
| 7. Technique de prélèvement d'organes | 23 |
| 8. l'animal entier | 24 |
| 9. Les Prélèvements lors des principales entités pathologiques aviaires..... | 24 |
| Chapitre VII : Les prélèvements chez les carnivores domestiques | 25 |
| 1. Le prélèvement sanguin | 25 |
| 2. Le prélèvement des urines | 25 |
| a. Le sondage urinaire | 25 |
| b. La cystocentèse..... | 26 |
| c. Bactériologie urinaire | 26 |
| c.1. Dépistage..... | 26 |
| c.2. Quantification de la bactériurie | 26 |
| c. 3. Nature des germes | 27 |
| d. Les candidoses urinaires..... | 27 |
| e. Parasitoses urinaires..... | 27 |
| 3. Le prélèvement de selles | 27 |
| a. La coproculture | 27 |
| b. La mise en évidence d'antigènes viraux | 27 |

| | |
|--|----|
| c. La recherche de parasite | 28 |
| 4. Raclage cutané | 28 |
| a. Les examens microscopiques directs..... | 28 |
| 5. Ecouvillon auriculaire | 28 |
| a. Examen direct de cérumen | 29 |
| 6. Prélèvement de la tête | 29 |
| 7. Prélèvement d'un épanchement cavitaire | 30 |
| a. Prélèvement d'un épanchement pleural..... | 30 |
| a.1.Examens bactériologique et mycologique..... | 30 |
| b. Prélèvement lors d'un épanchement abdominal..... | 30 |
| b. 1.Bactériologie..... | 30 |
| b.2.Parasitologie | 30 |
| 8. Prélèvement du liquide synovial..... | 30 |
| a. Examen bactériologique..... | 31 |
| a. 1. Rickettsioses | 31 |
| a.2.Bartonellose | 31 |
| a. 3. Leishmaniose | 31 |
| 9. Ponction de liquide céphalorachidien (LCR)..... | 32 |
| a. Les examens bactériologiques du liquide céphalo-rachidien (LCR) | 32 |

Chapitre VI- Les prélèvements en apiculture

| | |
|---|----|
| 1. collecte des échantillons..... | 35 |
| 2. Prélèvement d'abeille vivante..... | 35 |
| 3. Les frottis..... | 35 |
| 4. L'échantillonnage en fonction des pathologies..... | 36 |
| a. Acariose | 36 |
| b. loque américaine | 36 |
| c. loque européenne | 36 |
| d. Nosémose | 36 |
| e. Varroase..... | 36 |

Chapitre V-Les prélèvements chez les poissons

| | |
|---|----|
| 1. Règles d'échantillonnage..... | 37 |
| a. Echantillonnage par lot | 37 |
| b. Sélection des échantillons..... | 37 |
| 2. Prélèvements Sur animal vivant | 37 |

| | |
|--|----|
| a. Animal entier | 37 |
| b. Prise de sang | 38 |
| c. Prélèvement de liquide ovarien ou de laitance | 39 |
| 3. Sur animal mort /sacrifié | 39 |
| a. prise de sang | 39 |
| b. Prélèvement d'organe | 40 |
| c. Biopsie et grattages | 40 |
| c. 1. Biopsie d'une branchie | 40 |
| 4. Techniques de détection de certains parasites | 41 |
| Chapitre VI : Les prélèvements chez les animaux sauvages | |
| 1. Les prélèvements chez les singes (<i>Ateles sp.</i>)..... | 42 |
| a. Les contentions chimique et physique | 42 |
| b. Le prélèvement sanguin | 42 |
| c. Le prélèvement de moelle osseuse..... | 42 |
| d. La ponction de LCR..... | 43 |
| e. Les autres examens | 43 |
| 2. Les prélèvements chez l'éléphant | 44 |
| a. Le prélèvement sanguin..... | 44 |
| b. Prélèvement des urines | 45 |
| c. Prélèvements de selles | 45 |
| d. Lavage de trompe | 45 |
| 3. Les prélèvements chez les reptiles (Tortues, serpents, et lézards)..... | 46 |
| a. Contention des lézards et des serpents..... | 46 |
| b. Prélèvement de selles par lavage du colon chez les reptiles..... | 47 |
| c. Lavage trachéo-pulmonaire chez les reptiles | 47 |
| d. Prélèvement de sang chez les tortues..... | 47 |
| e. Prélèvement de sang chez les serpents | 48 |
| f. Prélèvement de sang chez les lézards | 49 |
| Conclusion..... | 51 |

La liste des tableaux

| Tableau N° | Titre | Pages |
|---------------|--|-------|
| 1 | Les prélèvements en parasitologie | 24 |
| 2 | Les prélèvements en bactériologie | 24-25 |
| 3 | Les prélèvements en virologie | 25 |
| 4 | Tableau des seuils de signification en fonction de la technique de prélèvement et de l'espèce (exprimé en germes/ml) | 27 |
| 5 | Liste des maladies détectables par PCR dans le LCS | 32 |
| 6 | Localisation de l'affection bactérienne et matérielle de prélèvement | 33 |
| 7 | Techniques de laboratoire utilisées lors de maladies virales | 35 |
| 8 | Echantillonnage des prélèvements en pathologie aquacole | 37 |
| 9 | Méthodes recommandées pour le diagnostic des agents de maladies de poissons listées par l'OIE. | 41 |
| 10 | Les maladies parasitaires des singes atèles (<i>Ateles sp.</i>) | 43 |
| 11 | Les maladies bactériennes des singes atèles (<i>ateles sp</i>) | 43 |
| 12 | Les maladies virales des singes atèles (<i>ateles sp</i>) | 44 |
| 13 | Les parasites de l'éléphant | 45 |
| 14 | Les maladies infectieuses de l'éléphant | 46 |
| 15 | Les maladies de la tortue | 48 |

| | | |
|----|---|----|
| 16 | Les principales pathologies des serpents | 49 |
| 17 | Les principales affections parasitaires des lézards | 49 |
| 18 | Les principales maladies infectieuses des lézards | 50 |

Listes des figures

| Tableau N° | Titre | Pages |
|-----------------------|---|--------------|
| 1 | Code associant la couleur au type de l'anticoagulant | 5 |
| 2 | Composition d'un triple emballage | 6 |
| 3 | Le site de ponction veineuse chez la poule. | 20 |
| 4 | Procédure de prélèvement sanguin sur la veine jugulaire | 21 |
| 5 | Procédure de prélèvement sanguin sur la veine métatarsienne médiane | 21 |
| 6 | Procédure correcte pour un écouvillon cloacal | 22 |
| 7 | Emplacement correct pour un écouvillon trachéal | 23 |
| 8 | Procédure correcte pour un écouvillon pharyngé | 23 |
| 9 | Réalisation d'un prélèvement de cérumen par un écouvillon auriculaire | 29 |
| 10 | Les sites de ponction articulaire | 31 |
| 11 | Mode de conditionnement des échantillons de poissons vivants | 38 |

| | | |
|----|---|----|
| 12 | Schéma indiquant les sites de ponction sanguine chez un poisson | 39 |
| 13 | Biopsie de nageoire caudale pour examen microscopique | 40 |
| 14 | Biopsie de branchie pour examen microscopique | 41 |
| 15 | Prise de sang à l'oreille sur un éléphant | 45 |
| 16 | Prélèvement d'urine sur un éléphant | 45 |
| 17 | Lavage de trompe sur un éléphant | 46 |
| 18 | Technique de contention des petits serpents | 47 |
| 19 | Contention d'un iguane | 47 |
| 20 | Prélèvement de sang chez la tortue | 48 |
| 21 | Prélèvement de sang chez le lézard | 49 |
| 22 | Réalisation d'un prélèvement de cérumen par un écouvillon auriculaire | 44 |
| 23 | Les sites de ponction articulaire | 46 |

LISTE DES ABREVIATIONS

- AIS** : Anémie infectieuse du saumon
- AL** : agglutination lente
- ARL** : agglutination rapide sur lame
- ATT** : aspiration trans-trachéal
- CCVD** : herpès-virose du poisson-chat
- CERVA** : Centre d'études et de recherches vétérinaires et agrochimiques
- ELISA** : Enzyme-linked immunosorbent assay
- ERV** : encéphalopathie et rétinopathie virale
- FAT**: immunofluorescence
- FC** : fixation du complément
- HA** : hémagglutination
- IC** : inhibition de la croissance
- IF** : immunofluorescence
- I.F.I** : Immuno Fluorescence Indirecte
- IHA** : inhibition de l'hémagglutination
- IHC** : immuno-histochimie
- IP** : immunoperoxydase
- IPG** : immunoprécipitation sur gel
- LCR** : Liquide CéphaloRachidien
- MF-FAT**: immunofluorescence après filtration sur membrane
- MO** : microscopie optique
- NHE** : nécrose hématopoiétique épizootique
- NHI** : nécrose hématopoiétique infectieuse
- NPI** : nécrose pancréatique infectieuse
- OMV** : herpès-virose du saumon masou
- PCR**, Polymerase chain reaction
- RSIV** : iridovirose de la dorade japonais
- RT-PCR**, Reverse-transcriptase PCR
- SHV** : septicémie hémorragique virale
- SN** : séroneutralisation
- VPC** : virémie printanière de la carpe
- WSIV** : iridovirose de l'esturgeon blanc.

RESUME

Après l'examen clinique d'un animal malade, le vétérinaire praticien peut émettre plusieurs hypothèses diagnostiques de suspicion. Le vétérinaire peut alors avoir recours à des examens complémentaires en réalisant des prélèvements. Ils sont en effet d'une aide non négligeable et voient leur intérêt accru avec l'avènement de nouvelles possibilités et techniques telles que la PCR.

La maîtrise des techniques de prélèvements est essentielle et autorise l'obtention d'un échantillon de qualité à l'origine d'une analyse plus fiable. Les prélèvements spécifiques pour plusieurs espèces (bovins, volaille, abeilles, carnivores, poissons, et les animaux sauvages) ayant un intérêt diagnostique sont abordés dans ce travail. Pour chaque espèce les techniques de prélèvement sont décrites et les bonnes pratiques permettant une analyse, et une interprétation dans les meilleures conditions. Ensuite, les analyses et le prélèvement approprié réalisés pour chaque maladie sont décrits. Les prélèvements en vue d'une analyse biochimique et histologique ne sont pas traités. L'intérêt de ce travail est de présenter de manière illustrée et attractive, les différentes techniques de prélèvements chez les différentes espèces. Ce travail a l'ambition de devenir un support supplémentaire à l'apprentissage de la propédeutique en médecine vétérinaire, en complément des cours magistraux et pratiques déjà enseignés dans nos universités et école.

Mots clé : prélèvement, analyse de laboratoire, examen complémentaire, germes

SUMMARY

After clinical examination of a sick animal, the veterinary practitioner can make several assumptions diagnostic suspicion. The vet can then be used to further investigations by making withdrawals. They are indeed of considerable assistance and see their increased interest with the advent of new opportunities and techniques such as PCR. Control of sampling techniques is essential and allows obtaining a quality sample of the source of a more reliable analysis. The specific samples for several species (cattle, poultry, bees, carnivores, fish, and wildlife) with a diagnostic value are discussed in this work. For each species sampling techniques are described and the best practices for analysis, and interpretation in the best conditions. Then, the appropriate sampling and analysis performed for each disease are described. Samples for histological and biochemical analysis are not covered in this guide. The interest of this work is to present an illustrated and attractive, different sampling techniques in different species. This guide aims to become an additional support in learning the propaedeutic veterinary medicine, in addition to lectures and practices already being taught in our universities and schools.

Key words: sampling, laboratory analysis, complementar examination, germs

ملخص

بعد فحص الحيوان المريض، يمكن للطبيب البيطري طرح عدة افتراضات و لمزيد من التحقيقات يمكنه اخذ عينات للتحليل. وهم في الواقع مساعدة كبيرة ونرى الاهتمام المتزايد مع ظهور فرص جديدة وتقنيات مثل PCR . السيطرة على تقنيات أخذ العينات هو أمر ضروري و يسمح بالحصول على عينة ذات جودة و تحاليل أكثر موثوقية . و تناقش نماذج محددة لعدة أنواع (الأبقار والدواجن والنحل ، والحيوانات آكلة اللحوم ، والأسماك ، والحيوانات البرية) مع القيمة التشخيصية في هذا العمل. ليتم وصف كل أنواع تقنيات أخذ العينات وأفضل الممارسات من أجل تحليلها وتفسيرها في أفضل الظروف لنقوم بعد ذلك بوصف و تحليل العينات المناسبة لتشخيص كل مرض . لا نتطرق لعينات التحليل النسيجي و البيوكيميائي في هذا العمل . و الفائدة من هذا العمل هو تقديم شرح بطريقة جذابة و أساليب أخذ العينات عند حيوانات مختلفة . هذا الدليل يهدف إلى أن يصبح دعم إضافي في تعلم الطب البيطري ، بالإضافة إلى المحاضرات و الأعمال التطبيقية التي يجرى تدريسها في الجامعات و المدارس .

مفتاح الكلمات : عينات ، تحليل مخبري ، فحص ، جراثيم .

Introduction

L'examen clinique (du grec *Klinikos* : "qui visite les malades au lit") est pratiqué par l'observation directe du malade avec le seul secours de quatre des cinq sens (vue, ouïe, odorat, toucher), ou de certains instruments de base qui apparaissent presque comme des extensions naturelles du clinicien, tels le thermomètre ou le stéthoscope). Des examens complémentaires de plus en plus nombreux, complexes et précis sont à la disposition de praticien et de son client.

Le recours aux examens complémentaires est aujourd'hui devenu monnaie courante et bon nombre d'ouvrages décrivent les prélèvements et les analyses à réaliser dans le domaine, par exemple, de la gestion du parasitisme ou de la qualité du lait. Toutefois, tant à l'échelle qu'à celle du troupeau, de nombreux autres types de prélèvements sont réalisables, le plus souvent de façon très facile, pour un coût très modéré. Le prélèvement permet d'effectuer ou de préciser des diagnostics, d'évaluer un pronostic, et éventuellement de juger des effets thérapeutiques.

Le choix de ces prélèvements est important car certains d'entre eux sont difficiles à réaliser, d'autre sont coûteux et enfin d'autre nécessitent un temps assez long pour l'obtention des résultats. Ce qui serait une perte de temps pour la réalisation du traitement de l'animal malade ou pour la réalisation de prophylaxie sur les autres animaux, d'autant plus que le praticien intervient souvent en situation d'urgence. Des précautions particulières doivent être entrepris pour que les prélèvements nous apportent le maximum d'informations qui doivent être de bonne qualité.

L'objectif de ce travail est d'élaborer une synthèse sur les différents prélèvements que le vétérinaire doit connaître, leurs indications, maîtriser les techniques définies afin d'avoir des résultats fiables, et aussi de décrire, de façon illustrée, des méthodes courantes et/ou originales de prélèvement, simple à réaliser en pratique et informatives.

Chapitre I : Généralités

1. Définition :

Le prélèvement est l'ensemble des procédures permettant le recueil, la conservation et le transport d'un échantillon biologique jusqu'à son traitement dans un laboratoire de biologie. [44]

2. Pourquoi réaliser des examens complémentaires ?

Le problème se pose surtout lors de syndromes à origines diverses : mammites, diarrhées, pathologies respiratoires, avortements... Afin de déterminer la cause précise de l'affection, et lorsque les signes cliniques seuls ne permettent pas de le faire, le recours aux analyses de laboratoire est inévitable. Effectivement, il est indispensable de connaître le type de l'agent pathogène responsable (affection bactérienne, virale, parasitaire ?) et de l'identifier le plus précisément possible. [23]

3. Objectifs :

L'objectif premier des prélèvements est l'identification de l'agent causal de l'affection. Ils doivent ainsi permettre soit:

- Un diagnostic direct par isolement de l'agent pathogène. Sur le plan scientifique, c'est le seul moyen de diagnostic expérimental lors d'infections d'évolution aiguë.
- Un diagnostic sérologique. Sur le plan scientifique, la conduite à tenir dépend de la cinétique d'apparition des anticorps ; il peut être intéressant de rechercher une séroconversion.
- Un diagnostic histologique ou hématologique. Ces techniques viennent le plus souvent en complément des techniques précédentes. [31]

4. Types de prélèvements :

On distingue différents types de prélèvements :

***Sur animal vivant:** liquide céphalo-rachidien, urine, lait, prélèvements cutanés, fèces, sang, sperme et liquide d'exsudat.

***Sur cadavre:** l'animal entier est le meilleur prélèvement dans le cas de petites espèces (poissons et abeilles en particulier); sinon les organes ou fragments d'organes sont analysés. [31]

5. Règles à suivre lors de prélèvements de spécimens :

Il existe quelques règles générales de récolte des échantillons destinés aux examens microbiologiques s'appliquant à tous les prélèvements :

- Ils doivent être récoltés au lieu le plus susceptible de fournir l'agent infectieux et ils doivent être manipulés d'une de la façon, qui favorise la survie et la croissance de l'agent infectant. [15]
- Les spécimens doivent être prélevés du site (périphérie) de la lésion le plus tôt possible après le début de la maladie.[63]
- Les spécimens doivent provenir d'un animal vivant sinon le plus tôt possible après sa mort.[63]
- Il faut toujours effectuer le prélèvement avant de débiter le traitement aux antibiotiques.[63]
- Les spécimens doivent être mis dans des contenants individuels imperméables, bien identifiés et avec la date du prélèvement.[63]
- le prélèvement doit être expédié au laboratoire et examiné rapidement après sa récolte.[63]
- réfrigérer immédiatement le prélèvement pour limiter la croissance des microbes.[63]

6. Les prélèvements destinés à une recherche bactériologique :

- Les prélèvements destinés au laboratoire de bactériologie doivent être réalisés aseptiquement à l'aide de matériel stérile. Ces prélèvements seront conservés dans des récipients stériles.[53]
- Une quantité adéquate de matériel doit être prélevée selon les tests envisagés, en particulier pour la recherche mycobactéries.[53]
- Plusieurs prélèvements sont à réaliser lorsque les lésions sont présentes à différents endroits et lorsque l'on demande plus d'une analyse ou lors de la recherche de *Mycobacterium*. [53]

7. Les prélèvements destinés à une recherche virologique :

- Les prélèvements doivent être réalisés le plus tôt possible après le début de la maladie.[12]
- Placer les prélèvements immédiatement au froid. La congélation est contre indiquée dans la quasi-totalité des cas.[12]
- Les biopsies sont particulièrement recommandées pour l'isolement des pathogènes viraux.[53]

Il faut également noter que la recherche d'un virus par immunofluorescence nécessite que le prélèvement n'ait pas été congelé. En effet, la congélation détruit les structures cellulaires et rend l'interprétation du résultat impossible.[22]

8. Prélèvements destinés à une culture anaérobie :

Les prélèvements concernent le pus ou autres exsudats issus de plaies, les liquides pleuraux ou péritonéaux, le liquide synovial, le LCR, l'urine collectée par cystocentèse, et les tissus post-chirurgicaux. Certaines précautions sont nécessaires :

-Il faut respecter les conditions d'asepsie.

-Il faut diminuer au maximum le contact du prélèvement avec l'air pour éviter l'effet toxique de l'oxygène sur les bactéries.

-Les liquides peuvent être collectés dans une seringue stérile, l'air est expulsé et l'aiguille coupée ou tordue. S'il ne peut être analysé dans l'heure qui suit, il doit être placé dans un tube sans oxygène.[53]

-Il ne faut pas réfrigérer des prélèvements suspects de contenir des bactéries anaérobies parce qu'elles sont sensibles au froid. [22]

9. Le choix de l'échantillon :

Le laboratoire qui effectuera le(s) épreuve(s) doit être contacté s'il existe des questions concernant le type d'échantillon qui doit être prélevé.

Une attention et un soin considérables doivent être exigés pour décider du choix des échantillons qui seront envoyés au laboratoire. Les échantillons doivent être représentatifs de la maladie à étudier et des lésions observées. Doivent aussi être pris en considération, le stade de la maladie et le développement des lésions ainsi que le genre de test(s) qui seront réalisés.[51]

10. La taille de l'échantillon :

Les échantillons collectés doivent être représentatifs de la maladie étudiée et des lésions observées. Quelques règles statistiques générales d'échantillonnage doivent être utilisées. Il est possible de calculer combien d'animaux doivent être prélevés à partir du troupeau ayant une certaine taille pour obtenir une probabilité de 95 % de détection de l'infection ou une exposition précédente en partant d'un certain pourcentage connu de la maladie.[51]







11. Le choix de l'anticoagulant et de tube (sang) :

Le type d'anticoagulant dépend du type d'analyse à effectuer :

- pour les cultures bactériennes : EDTA ou héparine.
- pour des hémoparasites : tout anticoagulant.
- pour l'hémogramme : tout anticoagulant
- pour la sérologie et la biochimie : tube sec stérile [44]

Les tubes sont repérés par la couleur de leur bouchon ; il existe un code international associant une couleur à un type d'anticoagulant (voir tableau). Ce code n'est pas toujours respecté par les fabricants.[44]

Figure n°1 : code associant la couleur au type de l'anticoagulant[44]

| Code couleurs | | | | | |
|--|--|--|--|---|--|
| Tube sec : sérum | Héparine | Fluorure de sodium | E.D.T.A | Citrate | Tube sec avec gel séparateur de sérum |
|  |  |  |  |  |  |

12. Emballage :

L'expéditeur doit s'assurer que les échantillons sont emballés afin d'arriver au laboratoire dans de bonnes conditions et qu'il n'y a pas de pertes au cours du transport.[51]

Les emballages doivent répondre aux critères fondamentaux de « triple emballage » composés de 3 éléments en allant de l'intérieur vers l'extérieur:

- un conditionnement primaire constitué d'un ou de plusieurs réceptacles étanches ;
- d'un emballage secondaire étanche.
- d'un emballage extérieur d'une résistance proportionnée au volume, au poids et au transport envisagé.

L'étiquetage est obligatoire sur la paroi externe de l'emballage tertiaire. [1]

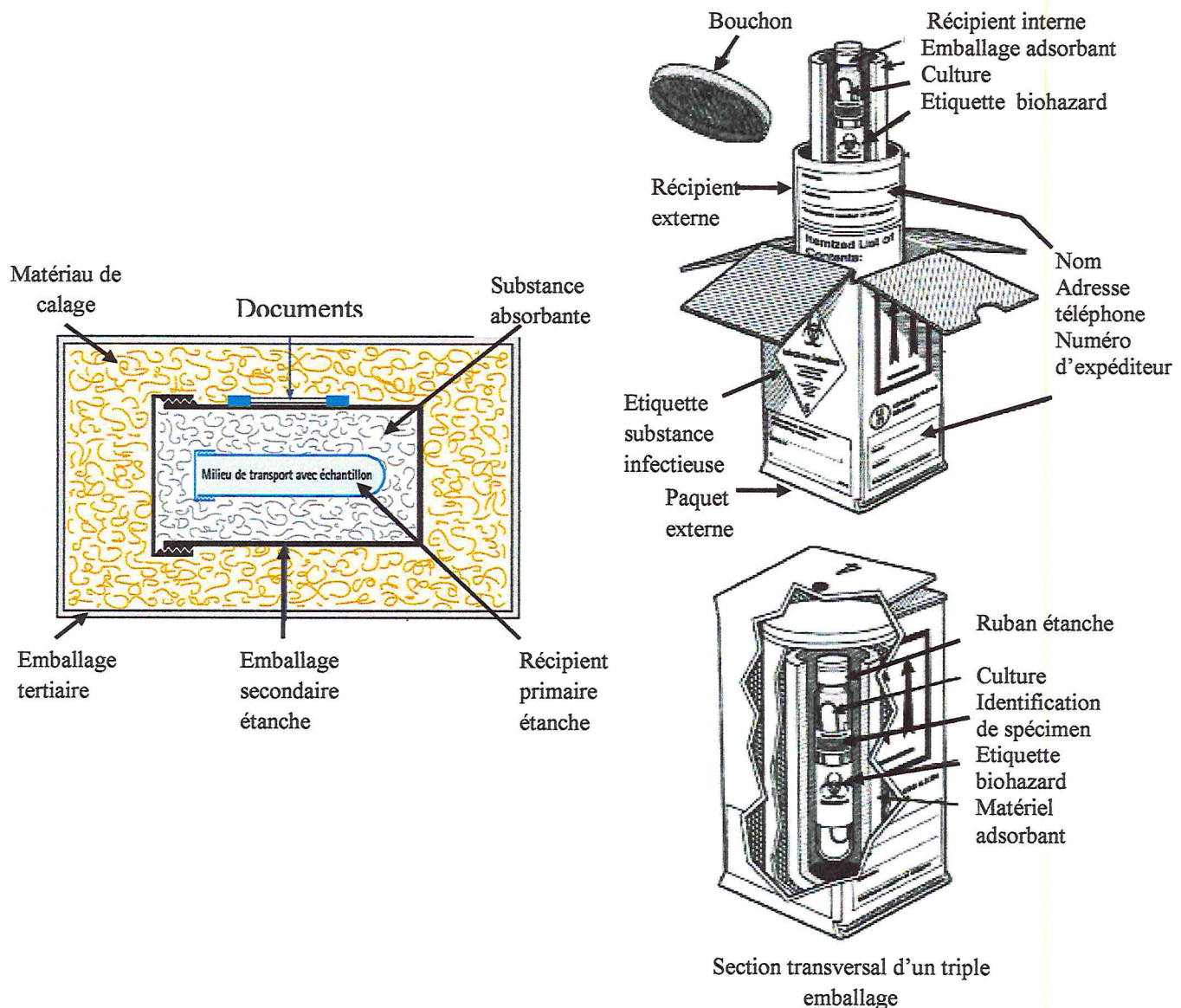


Figure n° 2: composition d'un triple emballage [1]

13. Délai de transport et conservation des échantillons :

En règle générale, les bactéries ne résistent pas à la dessiccation et au froid, en particulier lorsque de petits volumes d'échantillons sont prélevés. Les petits échantillons et les biopsies doivent être acheminés en 15 à 30 minutes au laboratoire, les autres en moins de 2 heures, afin de préserver la survie des micro-organismes les plus fragiles et d'éviter qu'ils soient inhibés par des bactéries plus résistantes à l'environnement extérieur. Les bactéries qui ne supportent pas de délai peuvent être

préservées dans des milieux de transport. Ceux-ci sont couramment utilisés pour des délais de transport de plus de 2 heures.[59]

14. Milieu de transports :

Ces milieux sont destinés à la conservation de certains types de micro-organismes et à l'inhibition d'autres organismes de croissance plus rapide. Les milieux de type Stuart conviennent pour la plupart des bactéries, y compris les anaérobies strictes. D'autres milieux sont nécessaires pour la recherche de certaines bactéries, comme les *Chlamydia*. La plupart des échantillons sont transportés à la température ambiante, d'autres nécessitent d'être réfrigérés.[59]

15. Fiche commémorative :

Tous les prélèvements doivent être impérativement accompagnés d'une fiche de commémoratifs soigneusement remplie par le vétérinaire praticien.[51]

16. Condition de transport :

Les échantillons doivent être transmis au laboratoire par la méthode la plus rapide disponible. S'ils peuvent arriver au laboratoire en moins de 48 h, les échantillons sont envoyés réfrigérés. [51]

17. Les sources d'erreur :

- le traitement antibiotique au moment du prélèvement ou l'envoi de celui-ci sans respect du délai d'attente.
- l'application locale de produits anesthésiques sur les lésions avant le prélèvement.
- l'utilisation d'un soluté contenant un antiseptique pour recueillir l'échantillon.
- le transport ou le stockage impropre des échantillons.
- Le choix d'un milieu de transport inapproprié.
- les difficultés de prélèvement qui peuvent rendre impossible l'obtention d'un échantillon représentatif du processus infectieux.
- la difficulté de distinguer une simple colonisation d'une véritable infection due à des bactéries opportunistes.[59]

18. Echantillons qui ne peuvent être acceptés pour analyse microbiologique :

- échantillons non étiquetés ou improprement étiquetés.
- échantillons reçus dans des récipients endommagés et non étanches.
- échantillons visiblement contaminés.

- échantillons reçus plus de 2 heures après leur prélèvement, sans avoir été conservés dans les conditions recommandées.
- échantillons inappropriés aux analyses prescrites.[58]

Chapitre II : Les prélèvements chez les bovins

1. le prélèvement de sang :

a. En bactériologie :

Le sang destiné aux examens microbiologiques doit être récolté dans des conditions d'asepsie, il faut raser, laver au savon, rincer avec l'eau propre la région surmontant la veine et la désinfecter en la recouvrant d'un morceau de coton ou de gaz imprégné d'un antiseptique. On laisse sécher la peau et on prélève le sang avec une seringue stérile et aiguille de taille convenable.[15]

- Le volume prélevé doit être suffisant pour isoler le germe même s'il est présent en petite quantité : **10 à 40 ml** selon la taille de l'animal.[31]
- Faire plusieurs prélèvements espacés de quelques heures (décharge fugace de bactérie dans la circulation).[37]
- La ponction est réalisée de façon aseptique de préférence à la veine jugulaire et sur un animal à jeûne. Le sang est réparti immédiatement dans deux flacons pour hémoculture (aérobie et anaérobie) sur anticoagulant (citrate de sodium) [31]
- Après la collecte, les échantillons doivent être réfrigérés jusqu'à leur expédition.[51]
- Pour les échantillons prélevés sur anticoagulant, il est nécessaire d'homogénéiser par agitation douce juste après la réalisation du prélèvement.[51]
- L'échantillon doit être identifié sans équivoque au moyen d'un feutre indélébile.
- Une demande d'analyse sur formulaire fourni par le laboratoire doit accompagner chaque envoi.
- Si une sérologie est affectée, l'échantillon de sang sera réalisé sur tube sec pour coagulation. Le sérum peut être congelé, mais jamais le sang.[51]
- Pour les réactions de polymérisation en chaîne (PCR), l'EDTA est l'anticoagulant de choix.[51]

b. En pathologie virale :

la récolte de 4 à 5 ml est en général suffisante, sinon elle dépend du membre, de la nature et des modalités de mise en œuvre des réactions sérologiques.

Elle s'effectue par ponction veineuse stérile, au vacutainer de préférence avec anticoagulant (héparine, le citrate de sodium, ou l'oxalate de calcium).[31]

c. En parasitologie :

On prélève le sang sur anticoagulant et on peut analyser le prélèvement à la fin de la demi-journée s'il n'a pas été au soleil. Le prélèvement peut se faire à partir de la jugulaire d'après l'Hostis. [25] Le prélèvement se réalise en raclant une des bronches veineuses de la partie externe du pavillon auriculaire à l'aide d'une aiguille pour faire apparaître une goutte de sang. [30]

d. Les analyses :

Le diagnostic de maladies infectieuses est réalisé par la détection directe et/ou indirecte d'agent infectieux.[51]

d.1.Les méthodes directes :

Les méthodes les plus usuelles pour la détection directe sont : l'isolement ou la culture *in vitro*, la microscopie électronique, l'immunofluorescence, les épreuves immuno-enzymatiques(ELISA), l'hybridation d'acide nucléiques, la réaction d'amplification en chaîne par polymérase(PCR).

d.1.1Agents pathogènes retrouvés dans le sang :

***Bactériologie :** Hémoculture

salmonelloses, *staphylocoques aureus*, *streptocoques*, *pasteurella*, *Escherichia coli*, *brucella* (très long à cultiver) [26], *Anaplasma marginale*, *Anaplasma phagocytophylum*. [13]

*** Virologie :**

Nous recherchons en particulier le virus responsable de la bovine diarrhea disease (BVD) par PCR ou RT-PCR (real polymerase chain reaction). Cela permet en particulier de mettre en évidence les antigènes présents en particulier lors de recherche d'animaux IPI (infecté permanent immunotolérant). La RT-PCR (en temps réel) est plus sensible et spécifique que la PCR classique grâce à une sonde immunofluorescente. De plus, elle permet de travailler avec des mélanges de 20 animaux. La technique donne un résultat quantitatif.[56]

***Parasitologie :**

Le frottis est séché et coloré avec la coloration May Gründwald Giemsa (MGG) ou une coloration rapide.[41] Les Babésia et théléria sont colorées en bleu.[31]

Une observation au microscope des bords du frottis au grossissement x40 ou x100 nous permet de distinguer l'espèce pathogène la plus importante en pathologie bovine notamment : *Babesia divergens*, *Babesia major*. [6]

La distinction des espèces est importante car seules *Babesia divergens* et *Babesia bovis* sont pathogènes. Un frottis positif, indique que le protozoaire est présent mais un frottis négatif ne permet pas de conclure à son absence dans l'étiologie de la pathologie. [41]

d.2.Méthodes indirectes :

Les méthodes de détection indirecte d'agent infectieux sont les épreuves sérologiques, dont les plus dominantes sont la séroneutralisation virale, l'ELISA, les épreuves d'inhibition d'hémmagglutination.

En général, les laboratoires de diagnostic utilisent simultanément les méthodes directes et indirectes, afin d'obtenir le plus de certitude possible pour un diagnostic. [51]

1-Si la contagion semble récente : faire 2 prélèvements consécutifs à 15 jours d'intervalle.

-Si le taux des anticorps augmente de façon sensible (4fois le taux initial au moins) une infection récente est probable. [26]

-Si le taux des anticorps reste stable, il s'agit d'une infection plus ancienne. Les anticorps sont dits « d'immunité ancienne ».

2-Si l'on veut simplement contrôler une immunité acquise un seul prélèvement suffit. L'absence d'anticorps peut faire envisager, le cas échéant, une vaccination. [26]

d.2.1. Affection possibles de détection par séro-diagnostic :

Brucellose-salmonellose-pullorose-leptospirose-listériose-rouget-spirochetose-mycoplasmose-reckettsioses-viroses-histoplasmose-sporotrichose-leishmaniose-toxoplasmose. [26]

2. Le prélèvement d'urine :

L'urine recueillie chez les femelles durant une miction spontanée ou provoquée (par légères caresses de la vulve) convient mal à la plupart des examens car elle peut être souillée par des substances étrangères directement par le cathétérisme (avec les précautions d'asepsie habituelles) les échantillons d'urine destinés aux examens bactériologiques, chimiques, et microscopiques. [55]

a. Récolte d'urine par sondage :

Si possible, la queue de l'animal est maintenue sur le coté. Un premier nettoyage grossier avec de la paille permet d'éliminer une grande partie des matières fécales. S'ensuit alors un nettoyage soigneux de la vulve à l'aide d'une solution antiseptique. Une lubrification peut faciliter la

réalisation du cathétérisme. L'urine est récoltée au milieu de la miction. Ensuite un ou deux doigts sont introduits dans le vestibule vaginal en suivant le plancher, lorsque le diverticule suburétral a été repéré, un doigt y est placé. Il convient alors de remonter le long du plafond de ce diverticule afin d'aboutir au méat urinaire. Le doigt est introduit (sur moins de 1cm pour une multipare) de ce diverticule afin d'aboutir au méat urinaire.[32]

Concernant le mâle, le cathétérisme est trop difficile et risqué à cause du Spénien, d'où l'obligation d'effectuer le prélèvement lors d'une miction naturelle. Pour aider l'animal à uriner, on frotte le prépuce avec un linge propre et on récupère l'urine au milieu de la miction. Il doit être conservé à 4°C. A température ambiante, l'urée se transforme en ammoniac et fait ainsi monter le Ph et les bactéries se multiplient plus.[30]

b. Bactériologie urinaire :

L'urine sécrétée par le rein est stérile, à moins que le rein soit infecté. L'urine contenue dans la vessie est également stérile.[15]

Il est possible dans certains cas de voir sur l'étalement des amas de bactérie lors d'infections urinaires. On pourrait également faire une coloration de Gram, une numération bactérienne à l'aide d'une plaque de koch, un comptage, une culture bactérienne. La numération bactérienne est nécessaire pour montrer s'il s'agit d'une infection du tractus urinaire ou d'une contamination.[30]

***Ce qu'on peut trouver :**

-des bactéries : *Entérobactéries (E.Coli)*, *Pyocyanique*, *Staphylocoque doré*, *moraxella*, *Streptocoques*, *Entérocoque*, *Corynebacterrium rénale* (pyélonéphrite du bœuf)

-des levures : *candida (C.albicans* est le plus fréquent)

-des parasites : *Belharzies*, œufs de strongles, embryon de filaire.[26]

Se méfier d'une bactériurie sans pyurie. Il peut s'agir d'un prélèvement fait dans des conditions aseptiques douteuses ou d'une urine fermentée après séjour extérieur prolongé.[26]

3. Le prélèvement de fèces :

Les excréments représentent pour le praticien une source d'informations aisément accessible.

En tenant compte de l'alimentation, leur examen renseigne sur le fonctionnement de chaque organe digestif et sur la présence éventuelle de maladies localisées hors de l'appareil digestif.[30]

a. Prélèvement pour analyses bactériologiques :

La technique est simple : elle consiste chez l'animal adulte à prélever des fèces à l'aide d'un gant de

fouille directement dans le rectum lors d'un examen transrectal. Chez le veau, il faut stimuler la défécation à l'aide d'un thermomètre ou avec un doigt gant.[30]

Une méthode alternative qui est parfois préférable, consiste à introduire dans le rectum un écouvillon en prenant soin que l'écouvillon entre au contact de la muqueuse. L'écouvillon doit être visiblement recouvert de matière fécale. Les écouvillons peuvent être transportés en milieu de transport approprié. Les fèces se conservent et se transportent très bien à 4°C.[51]

b. Prélèvement pour analyses parasitologiques :

Les fèces destinées à un examen parasitologique doivent remplir le tube et arriver au laboratoire en 24 heures. Si le temps de transport risquent de se prolonger au-delà de 24 heures, alors les prélèvements doivent être envoyés sur la glace au réfrigérés pour empêcher l'éclosion des œufs de parasites.[51]

Prélever les fèces à la main directement dans le rectum ou sur le sol juste après défécation. Les fèces à la main directement dans le rectum ou sur le sol juste après défécation. Les fèces sont conservées dans un flacon en plastique hermétiquement clos. Pour stopper l'évolution des œufs d'helminthes en larves, il est nécessaire de conserver les prélèvements au froid (pour quelques jours) à la température d'un réfrigérateur (4°C), ou dans une solution de formol du commerce à 5-10% (plusieurs semaines).

Dans chaque flacon la solution de formol doit recouvrir complètement les fèces. Chaque flacon doit obligatoirement porté un numéro d'identification.[37]

Des récipients à bouchons vissés ou des sacs plastiques stériles doivent être utilisés pour l'expédition ; il faut éviter d'utiliser des tubes avec des bouchons de caoutchouc car les gaz générés peuvent provoquer une expulsion du bouchon, détruisant ainsi l'intégrité de l'échantillon et contaminant les autres échantillons dans le paquet.[51]

c. Bactériologie :

On recherche des bactéries pathogènes. La découverte d'*E.Coli*, de *Campylobacter spp* ou *Clostridium perfringens* est normale. *E.Coli* O157.H7, est le sérotype le plus important et le plus virulent.[51]

Pour diagnostiquer la présence de paratuberculose chez un animal individuel cliniquement suspect, un certains nombre d'épreuves de laboratoire peut être utilisé : des frottis sur fèces, la culture sur fèces, les sondes ADN utilisant des fèces.[51]

Il est possible de faire une coprobactérioscopie : une coloration sur les fèces qui consiste à repérer les bactéries alcool-résistantes à l'aide de la coloration de Ziehl Nielsen. On peut également utiliser un test PCR.[30]

*** Germes pathogène rencontrés :**

Les salmonelles, paratyphiques, staphylocoque doré, Bacille de John (entérite paratuberculeuse)-pyocyanique-anaérobies- les infections à champignons ne sont pas rares. *C.albicans* est le plus souvent rencontré.[26]

d. Virologie :

Pour les analyses virologiques la congélation est possible.

On peut utiliser la microscopie électronique. Elle permet de détecter tous les virus en état d'excrétion. On recherche en général les Coronavirus et les Rotavirus.[30]

e. Examen parasitologique des selles :

On utilise la méthode de flottaison. On peut éventuellement réaliser un comptage à l'aide d'une cellule de Mac Master.[5]

On peut également observer les oocystes de cryptosporidies en mettant une goutte de saccharose à saturation (ou du sirop liquide de sucre de canne) avec les matières fécales entre lame et lamelle. Les oocystes sont réfringents à l'objectif 40 ou 100.[5]

Les giardia sont observables avec une coloration au lugol. La paroi du kyste est orangée et les structures internes sont visibles. Pour la recherche de *Fasciola hepatica*, il est préférable d'utiliser la méthode de sédimentation car les œufs sont très denses. On utilise la méthode de baermann pour la détection de *Dictyocaulus viviparus*. [5]

4. le prélèvement de lait :

a. Prélèvement pour analyses bactériologiques :

Le prélèvement d'échantillon de lait pour examen bactériologique n'est intéressant que s'il entreprend avant le traitement intra-mammaire avec des antibiotiques.

-commencer avant tout nettoyage et toute désinfection par tirer de chacun d'eux un vigoureux jet de lait dans le récipient prévu à cet effet et le rejeter (ne pas traire à la machine).

-la vache, doit être fixée solidement afin d'éviter les souillures par la poussière.

-le vétérinaire, placé à droite, aseptise tout d'abord les 2 trayons se trouvant le plus près de lui, ensuite les 2 autres. Il prélève les échantillons en procédant dans un ordre inverse.[55]

Pour la réalisation d'un CMT (Californian Mastitis Test), ces précautions suffisent.[30]

-enlever le bouchon du petit flacon stérile après l'avoir identifier (n° de l'animal, date de prélèvement, et situation du quartier). Puis, tout en le maintenant entre l'index et le médius de la main gauche, l'extrémité dirigée vers la paume de la main ; maintenu horizontalement en évitant tout contact avec le trayon, traire **5 à 10 ml** de lait par jet horizontal. Dans la mesure de possible, prélever un échantillon distinct pour chaque quartier.[55]

b. Prélèvement pour analyses sérologiques :

Le lait ne doit pas avoir été congelé, chauffé ou soumis à des agitations violentes. S'il y a un certain délai dans l'expédition au laboratoire, des conservateurs peuvent être ajoutés dans les échantillons de lait destinés à une analyse sérologique. [51]

e. Examen directe :

On trouve dans les laits pathologiques :-de nombreux polynucléaires, de nombreuses cellules mononuclées, des macrophages, des corps en croissant.[26]

f. Culture :

Elles seront différentes selon l'aspect de l'examen direct. Mais on aura toujours soin de pratiquer un ensemencement sur gélose enrichie au sang de cheval pour apprécier une hémolyse éventuelle.[26]

En général, on a trois milieux de culture ; les milieux CNA (gélose au cétrimide et à l'acide nalidixique), COS (gélose Colombia enrichie en sang de mouton) et BCP (gélose au pourpre de bromocrésol).Il est possible d'utiliser une galerie API^R. [30]

*** Les germes les plus fréquemment rencontrés :**

-*Staphylocoque aureus*.

-*Escherichia coli* et entérobactéries diverses.

-*Pseudomonas- Corynebacterium pyogenes -pasteurella-anaérobies- Streptococcus agalactiae, S.dysgalactiae, S.uberis, S.bovis*. [27]et des mycoplasmes.[30]

***Antigènes bactériens :**

Des antigènes d'*E. Coli* et de *S. agalactiae* sont détectables par la méthode Elisa dans 50% des mammites cliniques où ils sont présents.[30]

5. Le prélèvement de placenta et fœtus :

a. Prélèvement pour analyse bactériologique :

***Aussitôt après l'avortement :**

-Sur la mère : mucus cervico-vaginal : à la canne de verre rodé ou à la cuiller de Florent, Fragment de placenta ou lochies, sang prélevé stérilement pour hémoculture.

-Sur l'avorton : fragment d'organe ou organe entier.[26]

***Après l'avortement :(15 jours au moins)**

Prélèvement de sang de la mère pour sérodiagnostic.[26]

b. Bactériologie : mise en culture

Les bactéries sont recherchées principalement pour culture. Il faut penser à préciser se qu'on recherche si on a des suspicions précises car *Listeria monocytogenese* et les salmonelles ne se cultivent pas sur des milieux classiques.[31].Les brucelles peuvent être colorées en rouge par la méthode de coloration de Ziehl Neelsen modifiée par Stamp.[51]

***Les germes trouvés :**

Brucella-salmonella-Trichomonas fetus-entérobactériacea-Leptospires-Rickettsies-listeria corynebacterium.[26]

d.Virologie :

Le virus de BVD (Bovine Viral Diarrhea) et l'herpès virus de l'IBR peuvent être détecté sur culture cellulaire ou par la recherche d'antigènes viraux. Le BVD peut mis en évidence par PCR. L'immunohistologie et la PCR augmentent la rapidité et la sensibilité par rapport à la culture.il ya des cas où une culture peut être négative alors que l'antigénie est positive.

e.Parasitologie :

Il existe des techniques d'immunohistochimie pour la détection des protozoaires et leur identification car leur morphologie est assez proche et des confusions peuvent s'opérer entre *Toxoplasma* et *Neospora*. Il existe des méthodes de détection par PCR. [30]

6. le prélèvement de sécrétion bronchique :

Il existe plusieurs techniques pour obtenir ces sécrétions. Chacune a ses avantages et ses inconvénients. On choisi en fonction des recherches que l'on souhaite faire. Par exemple, un écouvillon nasal peut servir à une recherche virale mais pas bactérienne, alors que le lavage broncho alvéolaire (LBA) et l'aspiration trans-trachéale (ATT) le permettent.[30]

a. Ecouvillonnage nasal profond :

L'objectif de l'écouvillonnage est de recueillir des cellules épithéliales en grand nombre. Cette technique demande une réalisation soignée.[32]

Il est important d'intervenir au tout début de l'hyperthermie ou des symptômes clinique, ces dernières étant quelque fois le signe tardif et passé de l'excrétion virale par les voies respiratoires supérieures. Préalablement au prélèvement, le mufler peut être nettoyé avec un tampon imbibé de sérum physiologique.[54]

Tandis qu'un aide (ou le manipulateur lui-même) contient la tête de l'animal, l'écouvillon est frotté vigoureusement contre la muqueuse nasale d'un des méats dorsaux des cavités nasales, pendant environ 10 secondes, jusqu'à ce que l'embout soit rosé (rosée sanguine).[32]

Les cellules et débris cellulaires sont ensuite remis en suspension dans 1ml de NaCl 0,9% stérile.

b. Lavage broncho-alvéolaire :

Il a pour objectif de prélever des sécrétions et des cellules bronchiques et alvéolaires. La contention est semblable à celle de l'ATT. La cavité nasale est nettoyée.[32]

Puis la sonde est introduite dans un des orifices nasaux.

Le passage de trachée s'opère facilement car le plus souvent, le bovin tousse.

On fait alors progresser la sonde jusqu'à ressentir une résistance qui traduit un diamètre de bronche devenu trop petit pour continuer.

-il convient alors d'injecter dans la sonde 100 ml de sérum physiologique stérile, puis d'aspirer avec la même seringue le volume « mort » contenu dans la sonde, qui correspond généralement à 15 à 20 ml. On se sert de 3^{ème} seringue (stérile et vide) pour aspirer un maximum de liquide. Enfin, le contenu de la seringue est transféré dans un contenant (tube pot) stérile.

Si la sonde pénètre par accident dans l'œsophage, cela provoque généralement un réflexe de déglutition. On peut également le sentir par taxis externe.[32]

c. L'échantillonnage :

Pour une affection aiguë, on prélève idéalement 20% des animaux exposés au risque et dans tous les cas au moins 3 animaux. Lorsqu'il s'agit d'une affection chronique, il faut prélever au moins 10% du cheptel.[30]

d. Bactériologie :

On n'utilise pas l'écouvillon car *Mannheimia hemolytica* et *Pasteurella multocida* sont saprophytes chez les animaux sains.[27]

Il faut préciser ce qu'on demande comme culture car les bactéries recherchées peuvent être aérobies ou anaérobies. Il ya toujours un risque de résultat faux négatif lié à une utilisation d'ATB non avouée.[54]

Deux critères essentiels sont à considérer :-l'abondance et l'uniformité de la flore (examen directe et culture).Les germes trouvés sont : des pasteurelles ;des hémophiles ;des entérobactéries (colibacille, proteus, klebsiella...etc.) ;des sterptocoques(pneumocoque en particulier) ;des staphylocoques dorés ;des levures (*candida albicans*) ;des champignons (*Aspirgillus*) ;des mycobactéries.[26]

e. Etude virologique :

La virologie est souvent limitée aux principaux virus. Les tests de diagnostic direct les plus couramment utilisés font appel à l'isolement du virus sur cellule et à la recherche des antigènes spécifiques par immunochimie. L'isolement sur cellules suivi de l'identification des souches isolées par séroneutralisation ou immunofluorescence est la méthode de choix en raison de sa sensibilité. Les principaux virus associés aux troubles respiratoires : virus respiratoire syncytial bovin ; virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine ;le virus parainflueza 3 ;le virus de la maladie des muqueuses ;les coronavirus-les adénovirus.[54]

7. le prélèvement de jus de rumen :

Il convient, dans un 1^{er} temps, de placer dans la gueule de l'animal la partie rigide du matériel (visant à protéger la tubulure flexible) aucune complication notoire n'est rapportée.

-Il convient alors d'amorcer le prélèvement avec la pompe.

-les premiers 200ml sont écartés pour pratiquer l'analyse (ou les analyses) sur le volume suivant, afin de minimiser les risques de contaminations.[32]

a. Examen bactériologique :

Les lactobacilles sont plus nombreux quand il s'agit de ration a base d'ensilage, tandis que les streptocoques (*s. bovis*) sont plus nombreux lors de ration à base de concentrés ou de changement de ration.[30]

8. le prélèvement de tégument :

Les principaux prélèvements sont le raclage cutané, le trichogramme et le peignage, le calque cutané et le test à la cellophane adhésive, la cytoponction et la biopsie.[30]

a. Raclage cutané :

On utilise une lame de scalpel et on frotte la lame perpendiculairement à un pli jusqu'à l'apparition des capillaires, c'est-à-dire jusqu'à la rosée sanguine. S'il ya beaucoup de poils sur le lieu de prélèvement, il est possible de les éclaircir.[30]

b. Peignage :

On passe un peignage fin dans le poil afin de récupérer des éléments qui s'y trouvent (ectoparasites et débris cutanés). On peut trouver : *Dermatophilus congolensis*, *Arcanobactérium pyogenes*.[30]

A partir d'une culture cellulaire on peut trouver : le Virus cowpox.[30]

9. le prélèvement d'organes :

a. La biopsie pulmonaire :

Le lieu de ponction se trouve dans les espaces intercostaux 8 et 9 à la limite entre le tiers moyen et le tiers supérieur du thorax. On fait une préparation aseptique. On incise la peau 1,5cm en dessous de la zone que l'on veut ponctionner. On utilise un trocart de 15cm de long et de 0,6cm de diamètre que l'on remonte dorsalement en sous cutané jusqu'à la zone de ponction. la ponction se fait juste derrière la cote pour éviter de léser les vaisseaux et les nerfs de la région. Lors du passage de la plèvre, une baisse de résistance est perçue. il suffit d'avancer le trocart de 2cm.

Si on suspecte un abcès, il faut faire une ponction à l'aiguille spinale pour ne pas risquer de faire une rupture de l'abcès.[30]

10. prélèvement du liquide pleural :

Le prélèvement se fait sur l'horizontale qui passe par le coude, dans le 5 ou 6^{ème} espace intercostal, il est possible de se guider avec un échographe. On utilise la même technique et matériel que pour l'épanchement abdominal. On prend les mêmes précautions de contention surtout pour ne pas risquer de léser un gros vaisseau près du cœur.[30]

On peut trouver : *Pasteurella*, *streptocoques*, *pneumocoque*, *enterocoque*, *hemophiles*, germes anaérobies.[26]

11. prélèvement de liquide péricardique :

La ponction se fait au niveau du 4eme espace intercostal, il faut donc une corde pour tirer la patte antérieure gauche vers l'avant. la ponction se fait juste devant la 5^{ème} cote pour ne pas léser les nerfs et les vaisseaux qui cheminent immédiatement caudalement aux cotes.[30]

a. Examen bactériologique :

Recherche spécifique chez les ruminants après centrifugation du liquide péricardique ; on trouve *Cowdria ruminantium*. [26]

12. Prélèvement de liquide synovial :

On choisit l'articulation la plus enflée. La technique varie en fonction de la localisation. En effet, le plus souvent il s'agit d'atteinte de tarse, du carpe ou du jarret, les articulations du coude et du grasset sont également touchées. [30]

Il est nécessaire de plier certaines articulations pour avoir un meilleur accès à la cavité synoviale. C'est le cas du carpe puis, on palpe et on repère la cavité. Enfin, on peut introduire l'aiguille de 18 à 20 gauges afin de réaliser le prélèvement.

a. Examen bactériologique :

L'intérêt du laboratoire est surtout dans la mise en évidence de bactéries par culture et par la réalisation d'un antibiogramme, il est également possible d'isoler des virus tel que L'IBR ou de détecter des anticorps présents dans le liquide synovial en grande qualité, tel que des anticorps anti-brucelles. [30]

13. Prélèvement du liquide céphalorachidien :

02 techniques sont dans la littérature : la ponction en zone occipitale et la ponction en zone lombosacrée.

-le choix de la technique dépend de plusieurs facteurs. La ponction atlanto-occipitale est plus facilement réalisable chez le veau que la ponction lombosacrée. On est dans la situation inverse pour l'adulte. La zone de ponction doit être choisie en fonction de sa proximité avec la lésion supposée car il faut en être le plus proche possible. Il faut également tenir compte de la possibilité d'anesthésie, en effet, une anesthésie générale est nécessaire pour la ponction atlante-occipitale, l'animal étant en décubitus latéral (ce qui nécessite de mettre l'animal en hauteur si possible)

-une sédation est suffisante pour une ponction en zone lombosacrée. [30]

a. Examen bactériologique :

On note que l'isolement de bactérie est souvent difficile même s'il existe des techniques de plus en plus efficaces. Ainsi, il existe une technique d'amplification par PCR de la *Listeria*. [30]

On peut trouver (3) *Fusobacterium necrophorum*, *Actinomyces pyogenes*

b. Examen parasitologique : On peut trouver : *Setaria* [30]

Chapitre III- Les prélèvements en aviculture

En aviculture, le recours au laboratoire se fait de plus en plus fréquemment en raison de la pluralité étiologique des entités morbides constatées. L'examen clinique nécessite souvent une confirmation à l'aide d'examens de laboratoire. Le choix de prélèvement et sa qualité est essentiel pour la mise en œuvre du diagnostic de laboratoire. Les prélèvements sont de diverses natures et doivent être représentatifs de l'affection.

1. le prélèvement sanguin :

Les sites de prélèvement sanguin: la veine brachiale, la veine jugulaire, et la veine métatarsienne médiane. Deux lieux de ponction sont utilisés du vivant de l'animal.

Chez la poule, la prise de sang s'effectue :

* A la veine alaire située sur la face interne de l'aile entre les muscles biceps brachial et le triceps huméral. Après la désinfection et l'arrachage de quelques plumes, la peau est étirée pour empêcher le roulement de la veine.[31]

Enfoncer l'aiguille en deux temps : premier temps cutané, second temps intraveineuse, la veine restant toujours bien tendue. Aspirer à peine : le sang monte très facilement. Retirer l'aiguille et appliquer une pression sur la veine pendant quelques secondes. Cela aidera à minimiser le développement de grands hématomes. [11]

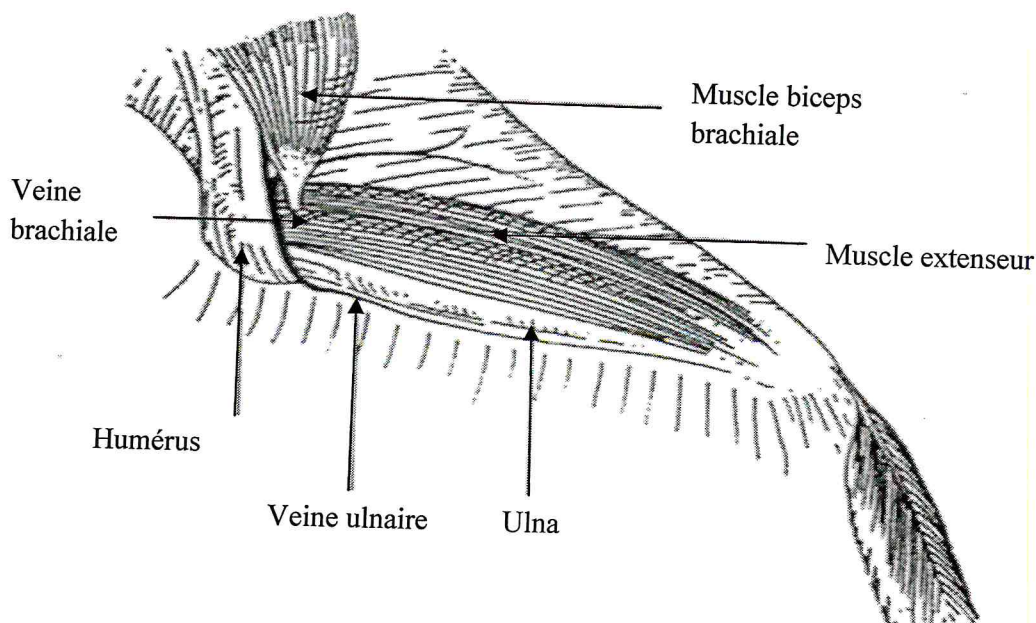


Figure n°3 : Le site de ponction veineuse chez la poule. [31]



Figure n°4 : Procédure de prélèvement sanguin sur la veine jugulaire.[35]



Figure n°5: Procédure de prélèvement sanguin sur la veine métatarsienne médiane.[35]

2ml de sang suffisent pour la plupart des analyses sérologiques. La récupération se fait sur tubes secs et stériles, couchés horizontalement, à 37°C pour faciliter la coagulation. Après quelques heures, le sérum est transféré dans les tubes d'Eppendorf et laissé à 4°C. [31]

2. Ecouvillon cloacal :

L'animal est généralement placé sur le dos, puis l'écouvillon est introduit de quelques centimètres dans le cloaque. Chez les grands oiseaux, il est possible d'insérer plus profondément l'écouvillon et tamponner avec une légère pression les surfaces internes du cloaque de deux à quatre mouvements circulaires tout en appuyant sur la muqueuse.[33]

Secouer doucement tout excès fécal de l'écouvillon avant de le placer dans le cryovial. Si l'échantillon va être placé dans un milieu de transport viral, collecter des fèces plutôt avec des écouvillons à embout de Rayonne ou de Dacron.[35]



Figure n° 6: Procédure correcte pour un écouvillon cloacal.[35]

3. Prélèvement de fèces :

Les échantillons de fèces sont ramassés dans les cages ou sur le sol. Utiliser un écouvillon imbibé de milieu de transport ou d'eau physiologique, Les fèces doivent être fraîchement émises pour que l'écouvillon soit suffisamment chargé de matières.[31]

les fèces sèches sont d'une valeur diagnostique inférieure (les virus deviennent inactifs en quelques heures aux températures élevées).[35]

4. Ecouvillon trachéal :

Le bec de l'animal est maintenu ouvert d'une main puis l'écouvillon est approché doucement afin de l'introduire dans l'ouverture de la trachée de l'animal. Parfois le canard reste en apnée et ferme l'entrée du larynx plusieurs secondes. En pratique il faudra faire plusieurs mouvements dans la trachée afin de récolter le maximum de cellule et de Mucus.[33]



Site de
prélèvement

Figure n°7: Emplacement correct pour un écouvillon trachéal[35]

5. Ecouvillon de la fente palatine :

Le bec de l'animal est toujours maintenu ouvert. L'extrémité de l'écouvillon est introduite dans la fente palatine. (pour la recherche de H5N1).[33]



Figure n°8: Procédure correcte pour un écouvillon pharyngé.[35]

6. Ecouvillon conjonctival :

Un petit écouvillon est plus adapté pour l'écouvillonnage conjonctival bien insisté dans les culs de sac conjonctivaux.[33]

7. Technique de prélèvement d'organes :

Repérer l'oiseau suspect moribond ou qui vient juste de mourir, Effectuer l'autopsie puis prélever les organes et tissus notamment le cerveau, le foie, la rate, le cœur, le pancréas, et les reins. L'intestin peut être prélevé mais conditionné séparément des autres organes. Les échantillons doivent être conservés dans du triple emballage renfermant des accumulateurs de froid et convoier rapidement au laboratoire pour être congelés.[31]

8. l'animal entier :

En pathologie aviaire, l'animal entier reste le prélèvement de choix.

-L'envoi au laboratoire d'animaux morts récemment (moins de 12heures), d'animaux malades et de quelque sujet apparemment sains permettrait de mieux situer la pathologie.

-Selon les pathologies, le nombre nécessaire peut varier. C'est ainsi que dans le cas de la maladie de Gumboro par exemple, ou il est nécessaire d'envoyer une dizaine de malades pour trouver les différents stades d'évolution de la maladie.

D'une façon générale, on peut considérer que le nombre d'animaux à envoyer au laboratoire :

10 sujets s'il s'agit de poussins de 1 à 21 jours ;

5-6 sujets s'il s'agit de poulet, volaille destinées à la production de chair ;

3-4 sujets s'il s'agit de volaille pondeuses ou reproductrices (10 dans le cas de suspicion de Gumboro).[12]

Il serait plus intéressant de suivre une méthode d'échantillonnage adapté selon des normes statistiques.

9. Les Prélèvements lors des principales entités pathologiques aviaires :

Tableau I : Les prélèvements en parasitologie[8]

| Maladies | Prélèvements | |
|--------------|-----------------------|--|
| | L'agent causal | Parasitologie |
| Coccidioses | <i>Eimeria spp</i> | Intestin affecté pour l'examen au microscope |
| Capillariose | <i>Capillaria spp</i> | Œsophage, jabot, gésier |
| Trichomonose | <i>T.galinae</i> | Organes affectés |
| Histomonose | <i>H. meleagridis</i> | Foie et caecums. Calques de tissus hépatique |

Tableau II: les prélèvements en bactériologie[8]

| Maladies | Prélèvements | | |
|---------------|--|--|-----------------------|
| | Agent causal | bactériologie | sérologie |
| Tuberculose | <i>M.avium</i> | Foie, rate : coloration de Ziehl. | |
| colibacillose | <i>E. coli</i> | foie | |
| salmonellose | <i>Salmonella spp</i> | Foie, rate, œuf et écouvillon de cloaque, litière et duvet | Sang : ARL, AL, ELISA |
| Pasteurellose | <i>P. multocida</i> | Moelle osseuse, sang, foie et écouvillons de cavités nasales et sacs aériens | Sang : ARL, AL, ELISA |
| mycoplasmosse | <i>M. gallinaceum</i> <i>M.synoviae</i> | Sacs aérien et trachée | Sang : ARL, AL, ELISA |

| | | | |
|---------------------------------------|--------------------------|--------------------------------|---------------------------|
| | <i>M.meleagridis</i> | | |
| Hépatite infectieuse aviaire (vibrio) | <i>Campylobacter spp</i> | Bile, foie, rate, et cœur | |
| Synovite infectieuse | <i>M. synoviae</i> | Articulation infectée | Sang : ARL. AL.IHA. ELISA |
| Arthrite staphylococcique | <i>S. aureus</i> | Articulation infectée | |
| Corysa | <i>H.paragallinarum</i> | Ecouvillon de trachée et sinus | Sang : ARL, AL |

Tableau III: les prélèvements en virologie[8]

| Maladies | Prélèvements | | |
|------------------------------|----------------------------|---|--------------------------------|
| | Agents causal | Isolement viral | sérologie |
| Bronchite infectieuse | <i>Coronavirus</i> | Trachée et poumon | Sang : ELISA. IPG. SN. HA. IF |
| Newcastle | <i>Paramyxovirus</i> | Ecouvillon de trachée, de cloaque, poumon, proventricule et cerveau | Sang : IHA, HA, SN, IPG, ELISA |
| Marek | <i>Herpesvirus</i> | Follicule plumeux | Sang : IPG, SN, IF, ELISA |
| Encéphalomyélite aviaire | | encéphale | Sang : SN, ELISA |
| Gumboro | <i>Birnavirus</i> | Bourse de Fabricius et rate | Sang : ELISA, SN, IF, IPG |
| Laryngotrachéite infectieuse | <i>Herpesvirus</i> | Ecouvillons de trachée, sinus, poumon | Sang : ELISA, IF, SN |
| Variole aviaire | <i>Poxvirus</i> | Lésions cutanée ou diphtéroïdes | Sang : IF, SN, HA, IPG, IP |
| Leucose | <i>Oncornavirus type C</i> | | Sang : ELISA, FC |
| Syndrome chute de ponte | <i>Adenovirus</i> | Foie et oviducte | Sang : ELISA, SN, IPG |
| Anémie infectieuse du poulet | <i>Virus non classé</i> | Foie et moelle osseuse | Sang : ELISA |
| Néphrite infectieuse aviaire | <i>Picornavirus</i> | Rein et cloaque | Sang : VN, IF |
| Arthrite virale | <i>Reovirus</i> | articulation | Sang : ELISA, SN ,IPG |

Chapitre VII : Les prélèvements chez les carnivores domestiques

1. Le prélèvement sanguin :

Faire le prélèvement avant institution de toute thérapeutique antimicrobienne.

Prélever de façon aseptique.[29]

Tonte éventuelle de la région de prélèvement (indispensable pour hémoculture).[44]

Effectuer les prélèvements à la veine radiale, à la veine saphène externe ou interne, ou bien à la jugulaire.[29]

2-Le prélèvement des urines :

a. Le sondage urinaire :

Doit être réalisée dans conditions strictes d'asepsie, il peut être utilisés pour les examens cytbactériologiques des urines.

* **Chez le mâle :** la technique est assez aisée à mettre en œuvre.

-désinfecter l'extrémité du pénis et du fourreau, couper les poils souillés si nécessaire.[58]

-la sonde est introduite délicatement dans l'urètre sans forcer. [45]

-l'urine s'écoule dès que le sphincter vésical est franchi.

-laisser s'écouler les premières gouttes d'urine puis collecter les suivantes dans le flacon stérile.[58]

***Chez la chienne :** la technique est un peu plus délicate.

-le praticien pose le miroir de clarr (lampe frontale qui permet à l'opérateur d'éclairer l'intérieur du vagin pour une visualisation correcte du méat urinaire) sur son front. Le spéculum fermé, est inséré en deux temps :-Premier temps, les mors du spéculum sont tournés vers le haut, et longent le plafond du vagin, puis le spéculum est placé horizontalement. L'orifice urinaire est visualisé en pressant doucement sur le plancher du vagin à l'aide de la sonde rigide. La sonde est insérée doucement.[58]

b. La cystocentèse :

Méthode de choix chez les animaux de petit format.[58]

La zone cutanée en regard de la vessie est rasée et désinfectée. La vessie (pleine) est isolée et maintenue légèrement sous tension. L'aiguille, inclinée de 30°vers l'arrière par rapport à la paroi abdominale, est introduite doucement sur la ligne blanche. L'urine est aspirée dans la seringue et déposée dans un flacon stérile.[45]

c. Bactériologie urinaire :

c.1.Dépistage :

Le dépistage d'une bactériurie peut s'effectuer à l'aide de bandelettes réactives mettant en évidence la présence de nitrites dans l'urine. Ce test nécessite cependant pour être positif :

-une quantité suffisante de nitrate dans l'urine.

-un séjour suffisant de l'urine dans la vessie.

-des germes capables de réduire les nitrates en nitrites.

-l'absence de traitement anti-infectieux.[44]

c.2. Quantification de la bactériurie :

La numération des bactéries contenues dans un millilitre d'urine est évaluée après ensemencement de l'urine sur un milieu gélosé. Cette numération est essentielle pour établir l'existence d'une bactériurie significative.[44]

Tableau IV : tableau des seuils de signification en fonction de la technique de prélèvement et de l'espèce (exprimé en germes/ml) [45]

| Recueil | significatif | douteux | contamination |
|--------------|------------------------|-----------------------------------|------------------|
| cystocentèse | Chien >10 ³ | 10 ² | <10 ² |
| | Chat >10 ³ | 10 ² | <10 ² |
| cathétérisme | Chien >10 ⁵ | 10 ³ à 10 ⁴ | <10 ³ |
| | Chat >10 ⁴ | 10 ² à 10 ³ | <10 ² |
| miction | Chat >10 ³ | 10 ² | <10 ² |
| | Chien >10 ³ | 10 ² | <10 ² |

c. 3. Nature des germes :

Les germes les plus souvent isolés dans les infections urinaires sont les entérobactéries (*E. Coli* et *Proteus*), les *staphylocoques*, les *pseudomonas* et les *streptocoques*. Généralement, l'infection urinaire n'est liée qu'à un seul germe, toutefois, des infections impliquant deux voire trois germes sont possibles mais rares.[45]

d. Les candidoses urinaires :

A l'examen du culot urinaire au microscope, les levures se présentent comme de petits éléments de 4 à 6 microns de large, rond ou ovoïdes, présentant parfois un aspect bourgeonnant. Pour conclure à une mycose urinaire « vraie » il faut réaliser plusieurs prélèvements par cystocentèse.[45]

e. Parasitoses urinaires :

L'infection par *Capillaria plica* est très rare. Des œufs de *Dictophyma* rénale peuvent aussi être mis en évidence, ainsi qu'exceptionnellement des microfilaires de *Dirofilaria immitis*. [45]

3. Le prélèvement de selles :

-Recueil de selles après stimulation rectal.[44]

- toucher rectale : on introduit doucement un doigt ganté dans l'anus du chien, et on récupère ainsi le contenu du rectum [58]

Frotter la paroi rectale avec un écouvillon stérile préalablement humidifié, laisser en place quelques minutes [44]

a. La coproculture :

Permet de rechercher des modifications de la flore digestive, et l'apparition de germes pathogènes[58].

a.1.Ce qu'on peut trouver :

Campylobacter spp, *salmonella*, *clostridium perfringens*, *yersinia enterocolitica*, *escherichia coli* (souches entéropathogènes (EPEC) entérotoxinogènes (ETEC) [45]

b. La mise en évidence d'antigènes viraux :

Recherche d'antigènes de parvovirus par ELISA ou PCR.[45]

c. La recherche de parasite :

c.1. L'examen direct :

Mélanger une petite quantité de matière fécale à un peu d'eau, puis la placer entre lame et lamelle et l'observer au microscope. La préparation est d'abord examinée à faible grossissement ex : 10x10 au microscope, ou 3,5 x10 sous loupe binoculaire). Les œufs et larve de vers peuvent être vus à ce grossissement.[58]

c.2. Les parasites rencontrés :

Giardia sp, *trichomonas sp*, *balantidium coli* ou *entamoeba sp*, œufs d'helminthes ou de coccidies.[45]

4. Raclage cutané :

La zone à racler ne doit pas être excoriée ou traumatisée et il est préférable de racler la périphérie des lésions. [34]

Choisir la zone cutanée raclée, en fonction de la pathologie suspectée par exemple, la zone postérieure du pavillon auriculaire lors de gale sarcoptique canine, la région dorsolombaire lors de cheyletiellose.[7]

Un pli de peau est pincée entre deux doigts et la lame bistouri est passée plusieurs fois sur celui-ci jusqu'à obtenir une « rosée sanguine ». Déposé le prélèvement sur une lame de microscope et mélangé à l'huile minéral ou lactophénol, une lamelle est ensuite posée sur le mélange. [34]

a. Les examens microscopiques directs :

La plupart des parasites peuvent être observé au microscope : les agents de gale (*sarcoptique* et *notoédrique*), les parasites superficiels et/ou intra-épidermiques et/ou intra-folliculaires : acariens psoriques, cheyletielles, *Demodex* et des dermatophytes.[7]

5. Ecouvillon auriculaire :

Récolter une quantité suffisante et représentative de cérumen, par un otoscope, soit directement à l'aveugle à l'aide d'une curette ou d'un écouvillon ; le prélèvement doit intéresser la partie profonde, le cérumen récolté est délayé dans du lactophénol sur une lame porte-objet puis recouvert d'une lamelle.[7]



Figure n°9: Réalisation d'un prélèvement de cérumen par un écouvillon auriculaire.[7]

a. Examen direct de cérumen :

Deux situations peuvent se présenter :

- Celle où l'observation d'un seul élément figuré, quel que soit le stade, suffit à établir le diagnostic: c'est le cas de l'otacariose à *Otodectes cynotis* (œuf, larve, nymphe ou adulte) et de la trombiculose (larve de *Trombicula* sp.) ;
- Celle où le diagnostic repose sur l'observation d'une population en multiplication : c'est le cas du *Demodex* sp. (Observation de nombreux adultes et/ou de nombreuses formes immatures: larves et nymphes).[7]

6.Prélèvement de la tête :

séparer la tête du corps au milieu du cou : les extrémités du museau et du cou ne seront pas sciées afin de conserver l'encéphale et les glandes salivaires ; les modalités d'expéditions sont très précises.

- envelopper la tête dans un papier absorbant ou toute autre matière du même type ;
- la placer dans un premier emballage étanche identifié avec une étiquette mentionnant : l'espèce et, si possible, le sexe de l'animal ; son numéro d'enregistrement ; remettre un second emballage étanche et reporter le numéro d'enregistrement dessus.

Ce paquet est finalement placé dans une boîte isotherme avec des sachets de glace ou de matière réfrigérante (dont il faut vérifier l'étanchéité) et avec une matière absorbante. On peut éventuellement remettre celle-ci dans un carton plus résistant, avec les commémoratifs.[31]

a. Les examens de laboratoire :

Plusieurs techniques sont employées pour le diagnostic :

- Par immunofluorescence directe (recommandée à la fois par l'OMS et l'OIE).
- Par méthode ELISA.
- isolement du virus.[51]

7. Prélèvement d'un épanchement cavitaire :

Lors d'épanchement cavitaire, la ponction du liquide va permettre à la fois de soulager l'animal et de réaliser les examens complémentaires nécessaires.[45]

a. Prélèvement d'un épanchement pleural :

Par ponction intra-thoracique sous asepsie stricte, au niveau du tiers postérieur droit du thorax, à mi-hauteur.[29]

Le liquide est déposé dans un tube EDTA pour l'examen cytologique, et dans un tube sec stérile pour d'éventuels examens bactériologiques ou sérologiques.[45]

a.1.Examens bactériologique et mycologique :

De nombreux germes peuvent entraîner la présence d'un liquide pleural. Demander au laboratoire l'isolement et l'antibiogramme, ainsi qu'une culture sur milieu de Sabouraud pour les mycoses.[29]

b. Prélèvement lors d'un épanchement abdominal :

L'animal est placé en décubitus latéral, la ponction s'effectue environ 1cm derrière l'ombilic sur la ligne blanche. L'aiguille est insérée délicatement tout en aspirant.[45]

b.1.Bactériologie :

Germes de suppuration, Germes anaérobies, BK[29]

b.2.Parasitologie :

Les parasites rencontrés sont :Echinocoques, filaires. [29]

8. Prélèvement du liquide synovial :(Arthrocentèse)

L'examen du liquide synovial se fait à partir des articulations gonflées ou présentant un épanchement synovial de préférence, ou à défaut à partir de deux à six articulations, en particulier carpes et tarses. Le site de ponction est tondu et nettoyé. Le matériel est constitué d'une seringue de 3cm³ avec une aiguille de calibre adapté à la taille de l'articulation. On pique dans l'articulation puis on applique une dépression légère sur le piston de la seringue. On arrête quand il n'y a plus de liquide qui vient ou si du sang apparaît. On utilise une goutte de liquide synovial pour faire une lame microscopique. Le reste du prélèvement est divisé sur tube sec pour les examens microbiologiques et sur tube EDTA pour les examens cytologiques et chimiques.[52]

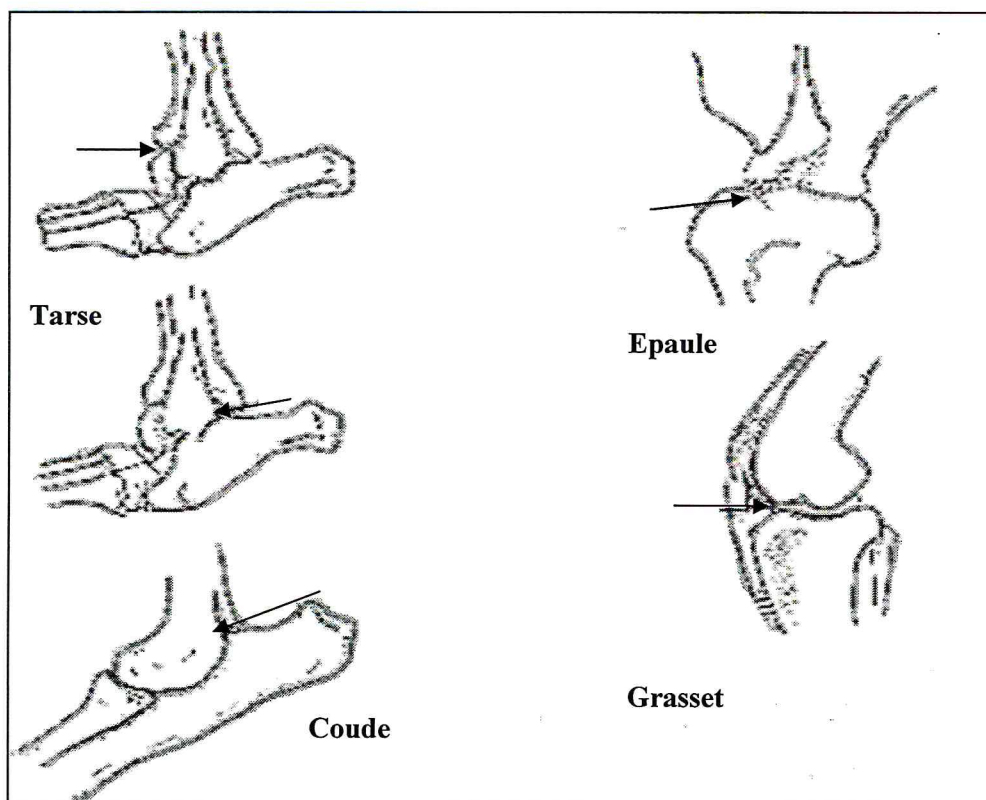


Figure n°10 : Les sites de ponction articulaire.[52]

a. Examen bactériologique :

Le prélèvement se fait sur tube sec car l'EDTA inhibe la croissance bactérienne, demander les cultures de bactéries aérobies, anaérobies et de Mycoplasmes. Dans les deux derniers cas, utiliser un milieu de transport spécial.[52]

Les bactéries sont les germes les plus rencontrés dans le cas d'arthrite infectieuse : *streptococcus* spp, *staphylococcus* spp , *E.Coli*, *pseudomonas* sp, *Klebsiella*, *Corynebacterium pyogenes*, et les *clostridies*. [52]

Les articulations peuvent être touchées lors des maladies suivantes : Rickttsioses, Bartonellose, Leishmaniose.[52]

a.1. Rickettsioses :

Les articulations peuvent être touchées lors de maladies dues à des bactéries de l'ordre des *Rickettsiales*. C'est le cas de la rickettsiose à *Rickettsia rickettsii*. [52]

a.2. Bartonellose :

Les Bartonelles peuvent être à l'origine d'une polyarthrite non érosive.[52]

a.3. Leishmaniose :

La leishmaniose est une maladie dont l'agent est un Protozoaire flagellé, *Leishmania*,

L'atteinte articulaire est souvent bilatérale au niveau des carpes, grassetts, torses, épaules et hanches.[52]

Les virus, mycoplasme, protozoaires et mycoses peuvent aussi être responsable d'inflammation articulaire.[52]

9. Ponction de liquide céphalorachidien (LCR) :

Les ponctions de LCR s'effectuent toujours sous anesthésie générale.[21]

Le LCR peut être collecté par ponction de deux sites : la citerne cérébello-médullaire et la citerne lombaire.[45].L'animal est placé en décubitus latéral, sous anesthésie gazeuse.[44] Préparer le site de ponction.

- **Dans le cas d'une ponction haute** : insérer l'aiguille et le mandrin au centre du triangle formé par les 2 ailes de l'atlas et la pointe de l'occiput, jusqu'à la citerne.

- **Dans le cas d'une ponction basse** : entre L6 et L7 ou L5/L6 pour les petits chien ou les chats ; entre L4/L5 ou L5/L6 ; L6/L7 pour les grands chiens.

- implanter l'aiguille juste en avant du processus épineux, traverser le cône dural, atteindre le plancher du canal.

- les premières gouttes de LCR ne sont pas prélevées

- recueillir à la seringue stérile au moins 1 millilitre du liquide.

- Remplir en premier le tube stérile puis le tube E.D.T.A (au moins 1ml/tube), puis retiré l'aiguille et effectuer une pression.[44]

On prélève entre 2 à 3 millilitres (ml) (1 à 2 ml par ponction lombaire) chez le chien et 1ml chez le chat.[21]

a. Les examens bactériologiques du liquide céphalo-rachidien (LCR) :

Les infections bactériennes du LCR sont rares chez les carnivores domestiques. Un examen bactériologique est indispensable pour isoler le ou les germes en cause.[45]

Tous les examens du LCR au laboratoire devraient comprendre l'examen physique, la numération des cellules et le dosage des protéines. Si ces épreuves révèlent des anomalies, d'autres tests peuvent s'y ajouter comme les cultures bactériologiques, la coloration de Gram pour rechercher les bactéries.[15]

Tableau V: liste des maladies détectables par PCR dans le LCS[21]

| Chez le chien | Chez le chat |
|--|--|
| -maladie de carré-toxoplasmose-néosporose-bornavirus-hépatite de rubarth-leishmaniose -brucellose-herpès virus-parvovirus | -herpès virus-calicivirus-chlamydiaophilose -infection à bordetella-toxoplasmose-bornavirus -Leishmaniose-panleucopénie-coronaviruse |

Tableau VI: Localisation de l'affection bactérienne et matérielle de prélèvement [61]

| | affections | prélèvement | Bactéries les plus courantes chez le chien | Bactéries les plus courantes chez le chat |
|------------------------------|--|--|--|---|
| Système nerveux | Méningite Encéphalite | LCR sur tube sec avec écouvillon plongé dans le LCR | <i>Streptococcus</i> spp., <i>Pasteurella</i> , <i>Staphylococcus</i> spp., <i>E. coli</i> , Bactéries anaérobies | <i>Streptococcus</i> spp., <i>Pasteurella</i> , <i>Staphylococcus</i> spp., <i>E. coli</i> , Bactéries anaérobies |
| Appareil respiratoire | Rhinite trachéite | Nettoyage nasal +écouvillon plongé dans le liquide | <i>E.coli</i> , <i>Pasteurella</i> spp <i>Streptococcus</i> spp, <i>Bordetella bronchiseptica</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Staphylococcus</i> spp <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp. | <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus</i> spp., <i>Pasteurella multocida</i> , <i>E. coli</i> |
| | Pleurésie pyothorax | Si thoracocentèse : liquide sur tube sec avec écouvillon plongé dans le liquide | <i>Mycobactéries</i> , <i>Pasteurella</i> spp., <i>Neisseria</i> spp., <i>Actinomyces</i> spp., <i>Nocardia asteroides</i> , Bactéries anaérobies: <i>Bacteroides</i> , <i>Fusobacterium</i> | <i>Pasteurella</i> spp., <i>Neisseria</i> spp., Bactéries anaérobies: <i>Bacteroides</i> , <i>Fusobacterium</i> |
| Appareil digestif | Gingivite Parodontite Amygdalite Glossite | Écouvillonnage des lésions +/- Biopsie dans sérum physiologique | <i>Streptococcus</i> spp., <i>Pasteurella</i> <i>multocida</i> , <i>Pseudomonas</i> spp., Bactéries anaérobies: <i>Bacteroides</i> , <i>Fusobacterium</i> , <i>Actinomyces</i> spp., <i>Spirochètes</i> | <i>Streptococcus</i> spp., <i>Pasteurella multocida</i> , <i>Pseudomonas</i> spp., Bactéries anaérobies: <i>Bacteroides</i> , <i>Fusobacterium</i> |
| | Diarrhée | Selles dans flacons stériles | <i>Salmonelles</i> , <i>E. coli</i> , <i>Campylobacter</i> spp <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Klebsiella</i> spp., <i>Proteus</i> spp., <i>Staphylococcus</i> spp <i>Yersinia</i> spp | <i>Salmonelles</i> , <i>E. coli</i> , <i>Campylobacter</i> spp <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Klebsiella</i> spp., <i>Proteus</i> spp., <i>Staphylococcus</i> spp <i>Yersinia</i> <i>enterocolitica</i> , <i>Yersinia</i> spp. |
| | Péritonite | Liquide de rinçage abdominal sur tube sec avec écouvillon | <i>Bacteroides</i> , <i>Clostridium</i> , <i>E. coli</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i> | <i>Bacteroides</i> +/- associées à des bactéries coliformes |
| Appareil génital | Vaginite Orchite Epididymite | Écouvillon vaginal/prépuce | <i>E.coli</i> , <i>Streptococcus canis</i> , <i>Pasteurella</i> , <i>Staphylocoques</i> spp., <i>Enterococcus</i> spp., <i>Klebsiella</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Mycoplasma</i> spp., | <i>Staphylocoques</i> spp., <i>Streptocoques</i> spp., <i>E. coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , Bactéries anaérobies |
| | Prostatite Absès prostatique | Fraction prostatique du sperme sur tube sec avec écouvillon plongé dans le liquide | <i>E. coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Proteus</i> spp., <i>Staphylocoques</i> spp., Bactéries anaérobies | <i>Staphylocoques</i> spp., <i>Streptocoques</i> spp., <i>E. coli</i> , Bactéries anaérobies, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| | Métrite Avortement | Biopsie du myomètre dans sérum physiologique | <i>E.coli</i> , <i>Streptocoques</i> hémolytiques, <i>Staphylococcus</i> <i>intermedius</i> , <i>Pasteurella</i> <i>multocida</i> , <i>Proteus</i> spp., <i>Klebsiella</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp., Bactéries anaérobies | <i>Staphylocoques</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp., <i>E. coli</i> , Bactéries anaérobies, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| Appareil urinaire | Cystite Néphrite Pyélonéphrite | Urines sur tube sec avec écouvillon plongé dans les urines +/- biopsie dans sérum physiologique | <i>E. coli</i> , <i>Staphylococcus</i> spp <i>Proteus</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp., <i>Enterococcus</i> spp., <i>Klebsiella</i> <i>pneumoniae</i> , <i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i> | <i>E.coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus intermedius</i> , <i>Staphylococcus felis</i> , <i>Proteus</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp., <i>Enterococcus</i> spp., <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |

Suite tableau VI

| | Affections | prélèvement | Bactéries les plus courantes chez le chien | Bactéries les plus courantes chez le chat |
|----------------------------|---|---|---|--|
| Peau | Infection cutanée Plaie/abcès | Ecouvillon de la lésion Ou Biopsie de la peau dans sérum physiologique | <i>Staphylococcus intermedius</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus canis</i> , <i>Streptocoques du groupe C</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>E. coli</i> , <i>Proteus.</i> , <i>Mycobactéries atypiques</i> (Biopsie), <i>Pasteurella</i> spp., Bactéries anaérobies: <i>Clostridium</i> , <i>Bacteroides</i> , <i>Actinomyces</i> , <i>Nocardia</i> | <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus intermedius</i> , <i>Staphylococcus felis</i> , <i>Streptocoques bêta hémolytiques</i> , <i>Streptococcus</i> spp., <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Mycobacterium</i> spp. (Biopsie) |
| œil | Conjonctivite Kératite Blépharite | Ecouvillon de la lésion Ou Biopsie dans sérum physiologique | <i>Staphylococcus intermedius</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus canis</i> | <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus intermedius</i> , <i>Staphylococcus felis</i> , <i>Streptocoques</i> spp., <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| oreille | Otite externe Otite moyenne Otite interne | Ecouvillonnage auriculaire pour chaque oreille | <i>Staphylococcus intermedius</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Streptocoques bêta hémolytiques</i> , <i>Proteus</i> spp., <i>Arcanobacterium pyogenes</i> , <i>Corynebacterium</i> spp., Bactéries anaérobies | <i>Staphylococcus</i> spp., <i>Streptocoques bêta hémolytiques</i> , <i>E. coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Proteus</i> spp., <i>Pasteurella</i> spp., <i>Enterococcus</i> spp., Bactéries anaérobies |
| Appareil ostéo-articulaire | Arthrite | Liquide articulaire sur tube sec et écouvillon plongé dans le liquide | <i>Staphylococcus</i> spp <i>E.coli</i> , <i>Pasteurella multocida</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Proteus</i> spp., Bactéries anaérobies | <i>Staphylococcus</i> spp., <i>E.coli</i> , <i>Pasteurella</i> spp. |
| | Ostéomyélite | Biopsie dans sérum physiologique +/- écouvillon de la lésion | <i>Staphylococcus</i> spp, <i>Streptococcus hémolytique</i> , <i>E. coli</i> , <i>Proteus</i> spp., <i>Pasteurella</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Klebsiella</i> spp., <i>Enterobacter</i> , Bactéries anaérobies | <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus</i> spp., Bactéries anaérobies |
| | Discospondylite | Biopsie dans sérum physiologique +/- analyse urinaire +/- hémoculture | Pour l'hémoculture se référer aux indications citées ci-dessous | |

Tableau VII : Techniques de laboratoire utilisées lors de maladies virales [44]

| Maladie | Diagnostic de laboratoire | Méthode utilisée |
|-------------------------------------|---|---------------------|
| Maladie de Carré (paramyxovirus) | Sérologie cinétique nécessaire à 15 jours d'intervalle | I.F.I |
| | Mise en évidence des anticorps dans le LCR | I.F.I |
| | histologie | formol |
| Parvovirose | Recherche du virus dans les selles ou le contenu intestinal | ELISA |
| | histologie | |
| Coronavirus canin | sérologie | I.F.I |
| Hépatite de Rubarth | sérologie | séroneutralisation |
| Leptospirose | sérologie | Micro-agglutination |

Chapitre VI- Les prélèvements en apiculture

1. collecte des échantillons : [24]

Lorsque les échantillons sont prélevés sur une colonie vivante, des précautions particulières doivent être prises pour éviter la perturbation de la colonie.

L'opérateur doit se protéger et il doit éviter de contaminer l'environnement ou tout risque de dissémination d'une maladie.

Les prélèvements se composent généralement : d'abeilles adultes avec un minimum de 50 sujets, et des couvains avec un ou plusieurs cadres complets ou au minimum un carré de 10cm de coté, découpé dans la zone caractéristique de la maladie.

2. Prélèvement d'abeille vivante :

Les abeilles vivantes doivent être tuées avec du diethyle éther ou dans une chambre de congélation (-20°C) durant une nuit, ou bien par immersion dans de l'alcool éthylique à 70 %. (Cas pour le diagnostic de l'acariose. [59])

3. Les frottis :

Les frottis sont utilisés pour le diagnostic des maladies bactériennes. Ils sont préparés à partir de larves, qui présentent les signes de la maladie. Le frottis est séché à l'air libre, mais il ne faut pas l'exposer au soleil, ni le couvrir. Envelopper les diapositives individuellement dans du papier et protéger avec du carton rigide.[59]

3 - L'échantillonnage en fonction des pathologies :

a. Acariose : L'agent causal est : *Acarapis woodi*

Ce sont principalement des abeilles rampantes et incapables de voler, trouvées à 3 mètres devant la ruche. Le meilleur moment pour le prélèvement des échantillons d'abeilles se situe au début du printemps ou à la fin de l'automne, lorsque les populations d'*Acarapis* sont les plus fortes. Les abeilles plus âgées ont plus d'acariens donc la visualisation est facile.[24]

Le CERVA recommande un échantillon de 60 abeilles vivantes qui rampent sur le sol devant la ruche .[24]

Les examens de laboratoires : observation au microscopique, méthode immuno-enzymatique (ELISA).[45]

b. loque américaine : L'agent causal est : *Paenibacillus larvae*

Il est recommandé d'envoyer au laboratoire un morceau de cadre de couvain d'environ 20cm², contenant autant de couvain mort et décoloré que possible

Envelopper l'échantillon dans du papier absorbant puis une boîte de carton. Évitez d'utiliser le plastique, le polyéthylène et de nylon pour maintenir l'échantillon. [42]

Si les cadres de couvain ont un aspect sain, des échantillons de miel peuvent être envoyés pour l'analyse en laboratoire. Des échantillons de nectar et de pollen collectés dans des cellules operculées près du couvain peuvent être pris avec une cuillère et être transférés dans un sachet en plastique ou un tube. .[24]

Les examens de laboratoire : Amplification en chaîne par polymérase PCR.[51]

c. loque européenne : L'agent causal est : *Melissococcus pluton*

Les larves fraîchement mortes sont les meilleures pour le diagnostic. L'échantillon aura les mêmes caractéristiques que pour la loque américaine.[24]

d. Nosérose : L'agent causal est : *Nosema apis*

Une méthode simple non quantitative pour détecter l'infection de *Nosema* est la suivante :

60 abeilles d'au moins 8 jours sont prélevées sur le pas de vol, et conservées dans du formol à 4% afin d'empêcher leur décomposition.[24]

Examens de laboratoire : Mis en évidence au microscope et identifié par PCR.[51]

e- Varroose: L'agent causal est : *Varroa destructor*

La mise en évidence du parasite se fait à partir :

- Des déchets hivernaux : ils jonchent au printemps le plancher des ruchers et sont récupérés après disposition d'un papier clair.

- De couvain des mâles : c'est-à-dire de couvain operculé de faux bourdons comportant au moins une centaine de cellules.
- D'abeilles : 100 sujets des différentes classes sont prélevés.[24]

Examens de laboratoire : Observation sous microscope. [51]

Chapitre V-Les prélèvements chez les poissons

L'Algérie devra favoriser le développement de l'aquaculture. Parmi les contraintes qui affectent le développement de l'aquaculture en Algérie est l'absence d'une politique de recherche scientifique.

1. Règles d'échantillonnage :

a. Echantillonnage par lot :

L'échantillonnage des poissons se fait par lot. Un lot se définit comme suit :

Poisson de même âge ayant toujours partagé le même approvisionnement en eau et qui proviennent d'une population donnée de géniteurs. Dans les situations où cette définition de lot ne peut être appliquée, c'est à l'inspecteur sanitaire des poissons de décider lui-même s'il y a lieu de diviser le poisson en lot.[18]

b. Sélection des échantillons :

La façon de déterminer le nombre exact de poisson qu'il faut prélever d'un lot donné est basée sur la probabilité de 95% de déceler un spécimen contaminé dans un lot pour lequel on suppose que le taux d'infection décelable est de 5 ou 10% .[18]

Il est important de noter que certains agents pathogènes, quand ils se trouvent à l'état de porteurs, sont très difficiles à déceler. Les probabilités statistiques indiquées dans le tableau peuvent ne pas s'appliquer à de telles situations.[18]

Tableau VIII: Echantillonnage des prélèvements en pathologie aquacole.[48]

| Stades des développements | Taille des poissons. | Taille minimum de l'échantillon. |
|---------------------------|----------------------|----------------------------------|
| Adultes | >150g | 5 poissons |
| Saumons de un à deux ans | 5-150g | 10 |
| Alevins et saumoneaux | <5g | 20 |

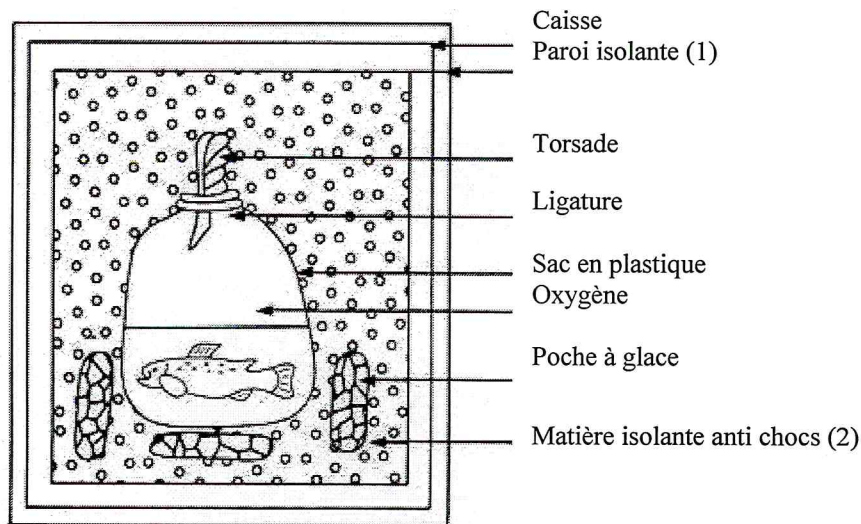
2. Prélèvements Sur animal vivant :

a. Animal entier :

On doit choisir les poissons porteurs d'anomalies caractéristiques et en condition sanitaire suffisante pour que la plupart arrivent vivants au laboratoire.[19]

Les animaux sont transmis au laboratoire dans des contraintes stériles réfrigérés ou sur de la glace. Il faut qu'ils soient vivants à réception ; le délai de transport ne doit pas excéder les 12 heures.[18]

Les sujets expédiés seront prélevés parmi les animaux non traités. [28]



(1) polystyrène

(2) copeaux de bois ou de polystyrène, sciure, journaux

Figure n°11 : Mode de conditionnement des échantillons de poissons vivants.[18]

b-Prise de sang :

Le site de prélèvements dépend de la taille de l'animal. Sur les plus grands, la veine dorsale crâniale et caudale à la nageoire crâniale dorsale peut être utilisée. Les veines qui passent sous les vertèbres sont aussi utilisées, par voie latérale ou ventrale.[38]

En général sur des poissons de plus de 60g, elle est effectuée à la veine caudale. Le poisson doit être correctement anesthésié et être maintenue absolument immobile, couché sur le flanc. Le vaisseau dorsal est ponctionné verticalement (biseau tourné vers l'avant) sous la ligne latérale à l'aplomb du milieu de la nageoire anale. L'aiguille est enfoncée doucement, jusqu'à ce qu'elle touche la colonne vertébrale ; il peut être nécessaire de la faire pivoter précautionneusement afin de récolter le sang.[18]

La ponction cardiaque s'effectue également sur un animal couché sur le flanc, opercules et lames branchiales soulevés. L'aiguille est implantée à la verticale de la paroi de la chambre brachiale, sur une ligne théorique joignant le sommet de l'œil au bord antérieur de l'insertion de la nageoire pectorale ; au point où elle coupe le bord de la quatrième branchie.[18]

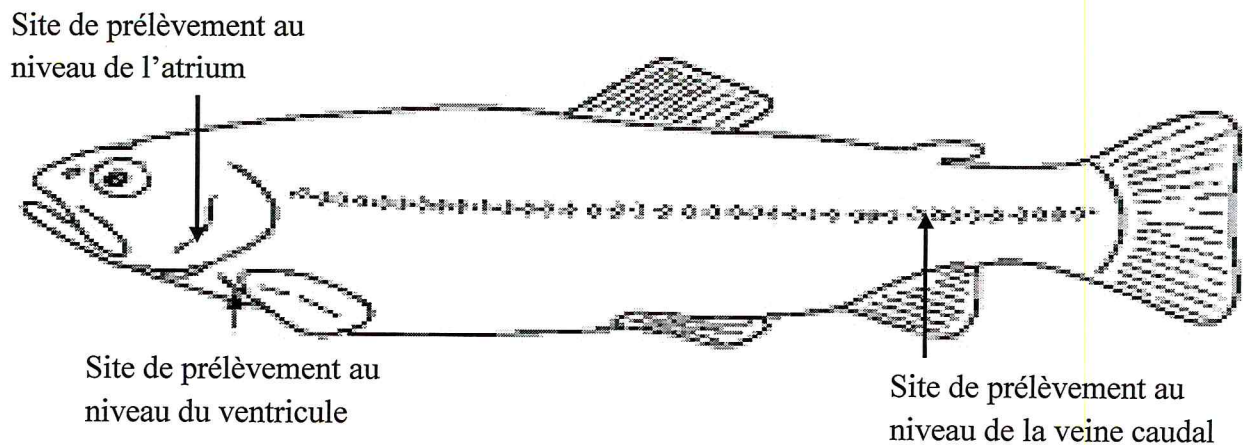


Figure n°12 : Schéma indiquant les sites de ponction sanguine chez un poisson.[18]

c-Prélèvement de liquide ovarien ou de laitance :

• Sur les femelles :

le préleveur sort l'animal du bassin en le saisissant par la main. De la main droite, la tête est fermement maintenue (sans la serrer) et de la main gauche, on enveloppe l'extrémité du corps en laissant le poisson s'agiter. Lorsqu'il se calme, l'opérateur ramène sa main gauche vers la tête et exerce une pression sur l'abdomen en descendant de la région antérieure du tronc jusqu'à l'orifice génital. Une personne exercée peut manipuler des poissons pesant jusqu'à un kilogramme ; pour les plus gros, il faut travailler à deux.[49] Les échantillons doivent être mis dans des éprouvettes stériles et être transportés dans un contenant isolé renfermant de la glace.[2]

• Sur les mâles :

La laitance est récupérée par une manipulation similaire, à une exception près : la pression s'effectue sur les flancs et non plus sur le ventre. Ces prélèvements sont conservés dans des flacons stériles et conservés à 4°C .L'identification virale doit être réalisée dans les 24 à 48h sur ces derniers.[48]

3. Sur animal mort /sacrifié :

a. prise de sang :

Un échantillonnage létal par ablation de la queue pourra s'avérer nécessaire pour les poissons trop petits pour subir un prélèvement par un système aiguille-seringue ou un système vacutainer^{MD}.

-Euthanasiez un poisson.

-Sectionnez le pédoncule caudal à l'aide d'un scalpel ou d'un couteau aiguisé.

-Remplissez un tube à hématocrite avec le sang s'échappant de la veine caudale.

-Obturez l'une des extrémités du tube à hématocrite avec le Critoseal^{MD}. [3]

b. Prélèvement d'organe :

les prélèvements d'organe concerne essentiellement le diagnostic virologique.

Les organes (rate, rein et encéphale pour les rhabdoviroses des salmonidés) doivent être prélevés le plus stérilement possible et placés en flacons stériles.

Sur les gros poissons, il ne faut pas prélever tout l'organe mais environs 3mm³ de chaque organe.

La quantité de tissus pour un lot doit peser au moins 0,5 gramme.[36]

Ils sont expédiés en colis isotherme réfrigéré après avoir être placés dans des petits flacons (30ml) a col large bouchés hermétiquement.

Pour la recherche des virus de la septicémie hémorragique virale ou de nécrose pancréatique infectieuse les organes peuvent être préalablement congelés si les dates ne permettent pas l'expédition.[28]

Le rein est l'organe idéal pour les cultures bactériennes. On peut également utiliser le cœur ou la rate.[62]

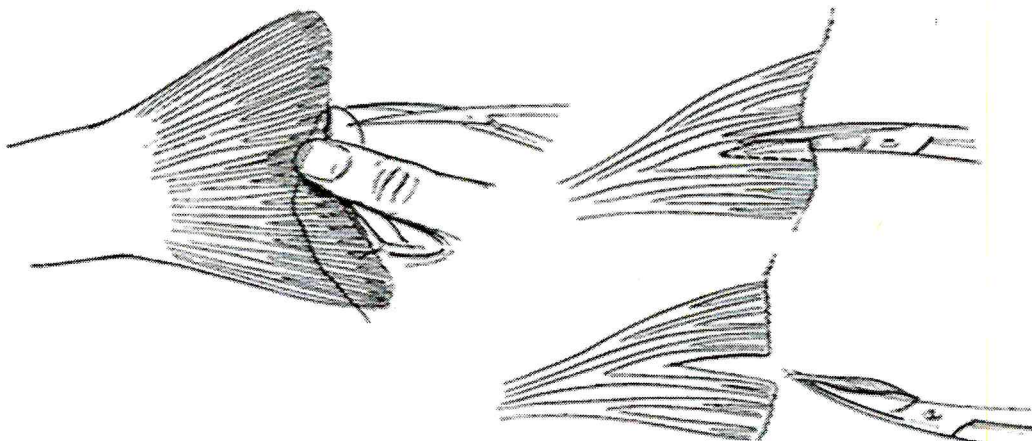


Figure n°13 : Biopsie de nageoire caudale pour examen microscopique.[38]

c. Biopsie et grattages :

Ils peuvent servir à poser un diagnostic préliminaire de maladie ectoparasitaire ou bactérienne, ou à caractériser des kystes ou des granulomes.[57]

*** Biopsie d'une branchie :**

- soulever ou enlever (lors de la nécropsie) l'opercule afin d'exposer les branchies.

- A l'aide de ciseaux, couper trois ou quatre filaments du deuxième ou troisième arc branchial.
- Déposer les filaments sur une lame de microscope sur laquelle on aura préalablement mis une goutte d'eau distillée.
- Recouvrir d'une lamelle et examiner au microscope.[57]

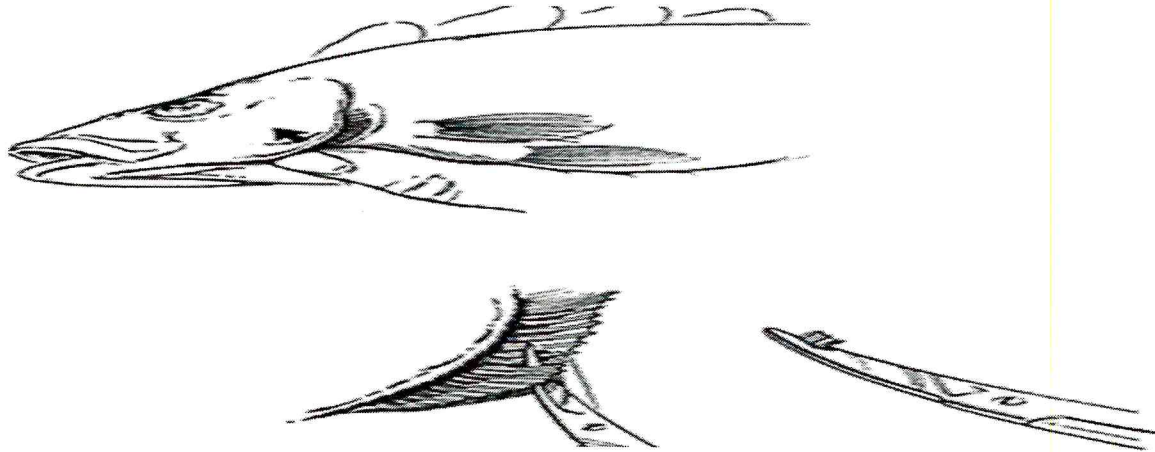


Figure n°14 : Biopsie de branchie pour examen microscopique.[38]

Tableau VIII : Méthodes recommandées pour le diagnostic des agents de maladies de poissons listées par l'OIE.[47]

| | culture | MO | histopathologie | immunodiagnostic | Diagnostic moléculaire | autres |
|-----------------------------------|---------|----|-----------------|------------------|------------------------|-------------|
| Virus | | | | | | |
| <i>VLP</i> | + | | | FAT, ELISA | | |
| <i>SHV</i> | +(SN) | | | FAT, ELISA | RT-PCR | |
| <i>CCVD</i> | +(SN) | | | FAT, ELISA | PCR | |
| <i>ERV</i> | + | | | FAT, IHC | RT-PCR | |
| <i>NPI</i> | +(SN) | | | FAT, ELISA, IHC | | |
| <i>AIS</i> | + | | + | FAT | PCR | |
| <i>RSIV</i> | + | | | FAT | PCR | |
| Oomycètes | | | | | PCR (expérim) | |
| <i>Aphanomyce invadans</i> | + | | + | | | |
| Bactéries | | | | | | |
| <i>Renibacterium Salmoninarum</i> | + | + | | FAT, ELISA | Nested-PCR | |
| <i>Edwardsiella Ictaluri</i> | + | + | | FAT, ELISA | PCR | |
| <i>Piscirickettsia spp</i> | + | | + | FAT, IHC | PCR | |
| Monogène | | | | | | |
| <i>Gyrodactylus salaris</i> | | | | | PCR,sonde ADN | Morphologie |

4. Techniques de détection de certains parasites :

Au sens large, toutes les approches sont utilisables et peuvent être appliquées en parasitologie.[4]

La recherche microscopique de parasites est effectuée sur les tissus vivants : peau, branchies,

nageoires, et matières fécales.[62]

Lors de l'anesthésie, la plupart des poissons défèquent un peu, ces fèces peuvent servir d'échantillon.[38]

Il est préférable de faire les prélèvements sur un poisson moribond, puisque les ectoparasites meurent rapidement lorsque le poisson est mort et ils se détachent si on immerge le poisson ou les tissus dans une solution de formol. [62]

On peut trouver : *myxobolus cerebralis* dans le sang, et *ceratomyxa shasta* dans le tissu.[2]

Chapitre VI : Les prélèvements chez les animaux sauvages

1- Les prélèvements chez les singes : (*Ateles sp.*)

a. Les contentions chimique et physique :

Le praticien ne doit jamais tenir un singe tout seul pour l'examiner ou le traiter. Même les petits primates nécessitent deux mains pour la contention. Un gant en cuir, ou un filet avec un grand manche peuvent être utilisés pour attraper des primates. Après la capture, l'animal de petite taille doit être fermement maintenu derrière la nuque par la main droite tandis que la main gauche tient les jambes et la queue pour arriver à une extension maximale du corps. Pour contenir de plus grands primates, il faut maintenir les deux bras de l'animal (au niveau des coudes) derrière son dos. Lorsque la contention s'avère difficile, une contention chimique est préférable pour la sécurité de tous. Elle peut être entreprise lorsque l'animal est dans un filet ou en attrapant un membre à travers les barreaux d'une cage adéquate (type cage à contention), en administrant le produit grâce à une injection intramusculaire ou à l'aide d'un pistolet ou d'une sarbacane. La kétamine est l'anesthésique le plus couramment utilisé chez les primates.[46]

b. Le prélèvement sanguin :

Le sang peut être collecté à la veine fémorale, à la jugulaire, ou à la veine saphène. L'artère fémorale est parfois utilisée pour collecter du sang. Les douroucoulis ont des taux élevés d'antithrombine III circulant (4 à 6 fois ceux des hommes ou des macaques rhésus), il faut donc effectuer une compression longue au site de ponction veineuse pour éviter une perte sanguine excessive chez ces animaux.[46]

c. Le prélèvement de moelle osseuse :

Il se fait par ponction au trocard préférentiellement au niveau de la crête iliaque, du grand trochanter du fémur, du grand tubercule de l'humérus proximal ou de la tubérosité ischiatique et

éventuellement à partir du sternum, des côtes ou des vertèbres sur des primates anesthésiés. De l'héparine sodium est administré à la posologie de 1 mg/kg IV avant le prélèvement.[46]

d. La ponction de LCR :

Les ponctions de LCR sont sous-occipitales ou lombaires, de préférence entre L2 et L3.[46]

e. Les autres examens :

Les autres examens, tels que les prélèvements d'urine, de salive, les écouvillons de diverses cavités naturelles ou les biopsies peuvent être effectués de la même manière que chez les animaux de compagnie.[46]

Tableau X : Les maladies parasitaires des singes atèles (*Ateles sp.*)[17]

| Maladies | prélèvement | Examens de laboratoire | Agent causal |
|--|---|--|-------------------------------|
| A-Entérite parasitaire | | | |
| Strongyloïdose | -Fèces -Lavage broncho-alvéolaire | -coproscopie -observation | <i>Strongyloides cebus</i> |
| Acanthocéphalose | -fèces | -flottaison -coproscopie par technique de sédimentation au formol-éther | <i>Prosthenorchis elegans</i> |
| Capillariose | -biopsie hépatique -fèces | -observation | <i>Capillaria hepatica</i> |
| Amibiase | -fèces -sang | -coprologie -sérologie | <i>Entamoeba histolytica</i> |
| Balantidiose | -fèces | -coprologie | <i>Balantidium coli</i> |
| Toxoplasmose | -sang | -sérologie -Test de lyse -Immunofluorescence indirecte -Elisa -Agglutination directe de Fulton (détection d'IgG et/ou IgM, appréciation possible du taux d'IgG par | <i>Toxoplasma gondii</i> |
| Dipetalonema | -sang | -frottis sanguin -biopsie | <i>Dipetalonema</i> |
| Ankylostomose | -fèces | -Coproscopie | <i>Ankylostoma necator</i> |
| B-pneumocytose | -Lavage trachéale -Echantillon de poumon | -observation au microscope | <i>Pneumocystis carinii</i> |
| C-Parasitoses du système cardiovasculaire | | | |
| Trypanosomose | -sang | -Frottis sanguin | <i>Trypanosoma cruzi</i> |
| Paludisme | -sang | -observation au microscope | <i>plasmodium</i> |

Tableau XI: Les maladies bactériennes des singes atèles (*ateles sp.*)[17]

| A-les entérites bactériennes | | | |
|-------------------------------------|-------------------|---|------------------------------------|
| Yersiniose | - selles -sang | -Isolement et culture -Sérologie (tests d'agglutination) | <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> |
| Shigellose | -fèces | -Coprologie | <i>Shigella flexneri</i> |

| | | | |
|---|---|---|--|
| | | -Isolement par coproculture | <i>S.sonnei</i> |
| Salmonellose | -fèces ou selles à uniformiser | -Coproculture | <i>Salmonella paratyphi</i> <i>B,S.infantis,S.orani enburg</i> <i>S.enteridis,S.rubisl aw,S.waycross</i> |
| Campyloactériose | -sang -fèces | -isolement (phase aigue) -sérologie | <i>Campylobacter jejuni</i> |
| Colibacillose | -fèces - urines -liquide pathologique | -coproculture | <i>E.coli</i> |
| B-maladies respiratoire bactériennes | | | |
| Tuberculose | sang | -Réaction de fixation de complément -ELISA | <i>Mycobacterium tuberculosis hominis</i> |
| Melioidose Pseudo morve | sang | -sérologie(technique d'agglutination ou d'immunofluorescence) | <i>Burkholderia pseudomallei</i> |

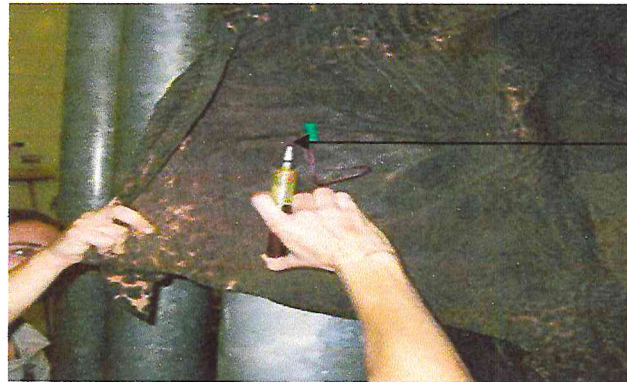
Tableau XII : Les maladies virales des singes atèles (*ateles sp*)[17]

| | | | |
|--|--|--|-------------------------------|
| A-Maladies virales à expression digestive | | | |
| les hépatites virales | -sang -biopsie de foie - tout liquide biologique pour le virus de type B | -Sérologie par titrage des anticorps | <i>Virus de type A,B ou C</i> |
| La fièvre jaune | -sang | -isolement | |
| B-Infection virales à expression cutanée | | | |
| <i>Herpesvirus tamarinus</i> | -vésicules de la cavité buccale/des lèvres, rate, rein. | -isolement | |
| C-Maladie virale à expression nerveuse | | | |
| la rage | Encéphale | -immunofluorescence -inoculation aux cultures cellulaires | <i>Rhabdovirus</i> |

2. Les prélèvements chez l'éléphant :

a. Le prélèvement sanguin :

Le site le plus courant pour les ponctions veineuses chez l'éléphant est l'oreille. En effet, l'oreille est hyper vascularisée pour permettre une bonne régulation thermique de l'animal. Les vaisseaux sanguins sont donc superficiels et la peau y est assez fine pour permettre la réalisation d'une prise de sang. Il existe un autre site de ponction moins utilisé au niveau du pied.[49]



Le site de ponction

Figure n° 15: Prise de sang à l'oreille sur un éléphant. [65]

b-prélèvement des urines :

Le recueil d'urine se fait par miction spontanée, le vétérinaire place un récipient sous le jet d'urine.[43]

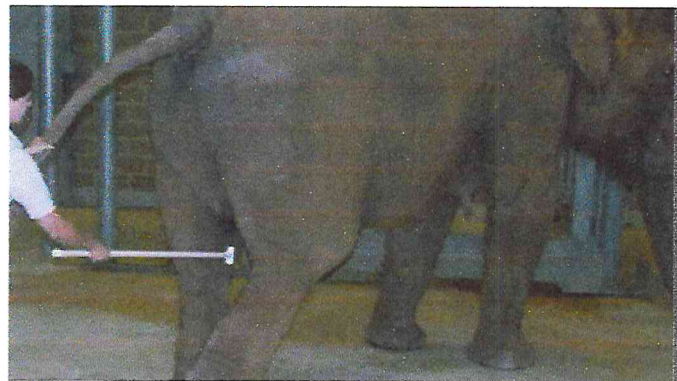


Figure n°16: Prélèvement d'urine sur un éléphant [65]

c. Prélèvements de selles :

Prélever à l'aide d'un gant une petite poignée d'excréments frais (moins d'une heure) [49] ou encore directement, les fèces au niveau de l'anus.[39]

* Examen parasitologique :

Sédimentation dans l'eau suivie d'une observation au microscope.[39]

Tableau XIII: les parasites de l'éléphant[39]

| Parasites digestifs | Parasites internes | Parasites externes |
|--|---|--|
| <i>Faciola hépatica</i> , <i>Echinococcus</i> <i>gramulosus</i> <i>Echinococcus veterinorum</i> <i>Toxocara lonchoptera</i> <i>Strongylus Equinubria</i> avec <i>Strongyloides elephantis</i> <i>Leiperinia galebi</i> (Oxyures) | <i>Trypanosoma evansi</i> <i>Babesia</i> <i>ssp.</i> <i>Indofilaria pattabiramani</i> <i>Loxodontofilaria asiatica</i> est <i>Syngamus</i> Syngaminés | Tiques genre <i>Ixodes</i> agents de gales avec : agents de myiases <i>Chrysomya bezziana</i> <i>Elephantoloemus indicus</i> . les poux mallophages Larves d'oestrose <i>Stomoxys calcitrans</i> <i>Calyptra eustrigannata</i> et <i>C. labilis</i> |

d-Lavage de trompe :

On injecte 60 ml de solution saline stérile dans la trompe de l'éléphant puis on place immédiatement un sac plastique au bout de la trompe et maintenu en place jusqu'à la fin de l'expiration de l'éléphant. Le liquide récupéré doit représenter au moins 20 ml et est transféré dans un container spécifique stérile et envoyer pour culture. Les échantillons doivent être congelé à -20°C, en maintenant la chaîne du froid et, ils doivent être transférés dans des tubes coniques stériles.[39]



Figure n° 17: Lavage de trompe sur un éléphant. [65]

Tableau XIV : les maladies infectieuses de l'éléphant (*Elephas maximus indicus*).[39]

| maladies | prélèvement | Examen de laboratoire | Agent causale |
|------------------------------|----------------------|--------------------------------------|---------------------------|
| Le charbon | sang périphérique | | <i>Bacillus anthracis</i> |
| salmonellose | coproculture | | <i>Salmonella</i> spp. |
| tuberculose | | culture sur lavage de trompe, Elisa. | <i>Mycobacterium</i> spp. |
| pasteurellose | | isolement sur milieu de culture | <i>Pasteurella</i> spp. |
| Le tétanos | | | <i>Clostridium tetani</i> |
| L'entérotoxémie | | mise en culture | <i>Clostridium</i> |
| diphthérie | | | |
| La variole de l'éléphant | ou croûtes | observation au microscope | <i>Variola elephantis</i> |
| La rage | | Des tests d'inoculation à des souris | |
| La fièvre aphteuse | Picornavirus | vésicule ou de l'épithélium lingual | |
| L'encéphalomyocardite virale | | PCR, tests sérologiques | <i>Cardiovirus</i> |
| La peste bovine | | sérologie | myxovirus |
| Les mycoplasmes | | isolement | <i>Mycoplasma</i> spp. |

3-Les prélèvements chez les reptiles (Tortues, serpents, et lézards) :

a. Contention des lézards et des serpents :

- Pas de gestes brusques ou imprécis.
- Eviter les lumières vives, manipulation avec des mains froides, et l'utilisation de gants épais.[10]
- chez les lézards jamais : de contention par la queue, et engourdissement par le froid.[43]

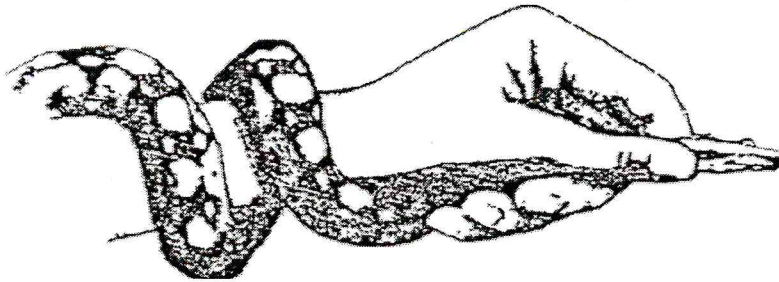


Figure n°18 : Technique de contention des petits serpents.[10]

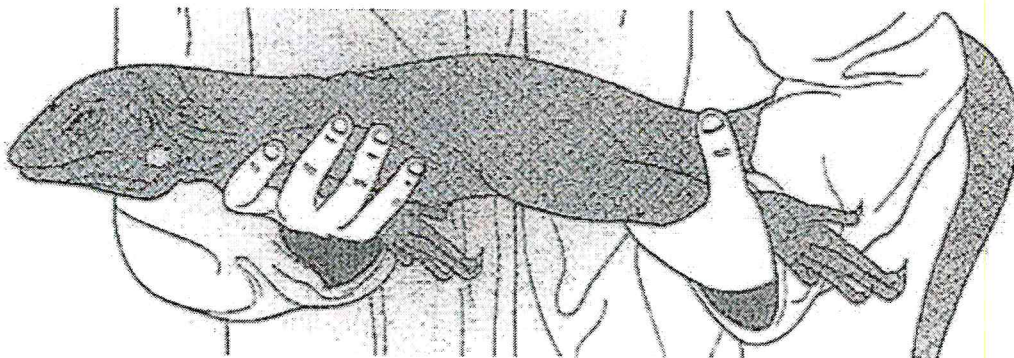


Figure n° 19: Contention d'un iguane.[14]

b. Prélèvement de selles par lavage du colon chez les reptiles :

Introduire une sonde (sonde urinaire, tubulure de cathéter) lubrifiée dans le cloaque, en direction rostrale et ventrale, puis instiller 10 ml/ kg de PV de NaCl 0,9 % stérile et tiède. Appliquer un léger massage abdominal, et aspirer le liquide avec une seringue.[43]

c. Lavage trachéo-pulmonaire chez les reptiles :

Maintenir la bouche ouverte et repérer l'orifice glottique, Introduire une sonde (type naso-oesophagienne) jusqu'à 1 poumon, Instiller 5 ml/kg PV de sérum physiologique stérile (3-10 ml/kg PV chez le serpent), le récupérer doucement à la seringue avec l'animale tête vers le bas. Retirer la sonde délicatement.[43]

d. Prélèvement de sang chez les tortues :

• **Veine caudale (coccygienne) dorsale** : Tirer la queue légèrement vers le bas, introduire l'aiguille médialement dans le 1er 1/3 de la queue, perpendiculaire (ou direction crâniale) jusqu'au corps vertébral, puis la retirer doucement jusqu'à récolter du sang.[43]

• **Veine jugulaire droite** (espèces non agressives) : La veine jugulaire droite est plus développée que la gauche.[20]

Cou tendu vers l'avant, veine visible ventralement, caudalement au tympan. Ponction tangentielle, à mi-hauteur du cou, d'orientation crânio-caudale. Le volume ne doit pas dépasser 0,5 ml/100g de PV.[43]



Figure n°20: prélèvement de sang chez la tortue.[66]

Tableau XV: les maladies des tortues [43]

| | Affections | prélèvements | Examens de laboratoire | Agent causal |
|------------------------------|---------------------|---------------------------|---|--|
| Appareil digestif | diarrhée | fèces | coproscopie | Bactérie :Aeromonas, salmonella, shigella, proteus. Parasites : Ascaridés Oxyuridés Giardia, trichomonas,Coccidies |
| Appareil respiratoire | Rhinite contagieuse | Sang Jetage nasale | Sérologie,culture | Bactérie : <i>mycoplasma agassizii</i> |
| | Pneumonie | Lavage trachéo-pulmonaire | Culture bactérienne Culture virale Observation directe de parasites | <i>Bacteriodes, Clostridium Herpes virus Trématodes , coccidiose</i> |
| Appareil urinaire | cystite | urines | analyse | Flagellés : <i>hexamita parva</i> |
| sang | Parasitose sanguine | Frottis sanguin | coloration | <i>Spirorchis, Filaires Trypanosoma plasmodium</i> |

e. Prélèvement de sang chez les serpents :

•**Cardiocentèse** : localisation par palpation (1/5ème de la longueur tête queue), stabilisation du cœur entre le pouce et l'index, introduction de l'aiguille au niveau de la projection de l'apex du cœur en direction de sa base, réaliser une dépression.[43]

•**Veine (caudale) coccygienne ventrale** : décubitus dorsal, stabilisation de la queue, introduction de l'aiguille en position médiale au 1/3 de la queue, perpendiculairement (ou à 45° si petits vaisseaux), jusqu'au contact du corps vertébral, réalisation d'1 dépression et retrait progressif de l'aiguille jusqu'à récolter du sang. Le volume dépasser 0, 7 ml/100g de PV.[43]

Tableau n°XVI : les principales pathologies des serpents.[43]

| | Affections | prélèvement | Examen de laboratoire | Agent causal |
|------------------------------|------------|---------------------------|-----------------------|--|
| Appareil digestif | diarrhée | fèces | coproscopie | Bactérie : salmonella, shigella, proteus, pseudomonas Parasites : helminthes, amibes, flagellés, coccidies Virus : parvovirus, adenovirus, paramyxovirus |
| Appareil respiratoire | pneumonie | Lavage trachéo-pulmonaire | culture | Bacteroides, fusobacterium, clostridium, Parasite : nématodes : fuscovenosa, pentastomidès |

f. Prélèvement de sang chez les lézards :

•**La veine caudale ventrale** :

La technique est analogue à celle qui est réalisée chez les serpents. La ponction ne doit pas être réalisée trop près du cloaque au risque de léser les hémipénis chez les mâles.[14]

Le volume ne doit pas dépasser 0, 5-0, 7 ml/100g de PV.[43]



Figure n°21: prélèvement de sang chez le lézard.[67]

Tableau XVII : Les principales affections parasitaires des lézards [43]

| | peau | Appareil digestifs | Appareil respiratoires | sang |
|--------------|-----------------------|--|---|--|
| parasites | <i>Tiques myiases</i> | <i>Cestodes, Ascarides Strongylides Flagelles. Amibes, Coccidies</i> | <i>Nematodes, fuscovenosa Pentastomides</i> | <i>NématodesHématozoaires, trypanosoma, plasmodium... ..</i> |
| prélèvements | | fèces | Mucus oro-nasal ou fèces | Frottis sanguin |

Tableau XVIII : Les principales maladies infectieuses des lézards.[43]

| | Affections | prélèvement | Examen de laboratoire | Agent causal |
|-----------------------|------------|---------------------------|-----------------------|--|
| Appareil digestif | diarrhée | fèces | coproscopie | <i>Salmonella, Shigella, Proteus, Aeromonas, Aseudomonas</i> |
| Appareil respiratoire | Pneumonie | Lavage trachéo-pulmonaire | culture | <i>E.Coli, Pseudomonas, Proteus, Salmonella, Klebsiella,</i> |

CONCLUSION :

L'analyse de prélèvements est souvent le passage obligé pour accéder à un diagnostic de certitude dans un grand nombre d'affections en médecine vétérinaire. Tant à l'échelle de l'individu, qu'à celle du troupeau, de nombreux types de prélèvements sont réalisables, le plus souvent de façon très facile et pour un coût très modéré. La maîtrise des techniques autorise l'obtention d'un échantillon de qualité à l'origine d'une analyse plus fiable. A défaut de maîtrise, la connaissance « globale » de ces techniques constitue un objectif indispensable pour tout étudiant se préparant à exercer en tant que vétérinaire praticien. Offrir aux étudiants et jeunes praticiens les outils pour leur permettre de réaliser des prélèvements dans de bonnes conditions est le but de cette thèse. Quoique perfectible, ce travail présente les prélèvements de manière illustrée, attractive et interactive. Ce guide a l'ambition de devenir un support supplémentaire à l'apprentissage de la propédeutique dans l'espèce bovine, en complément des cours magistraux et pratiques déjà enseignés dans nos écoles. Ce travail constitue un guide illustré qui aidera le praticien à mettre en place ces différentes procédures chez les bovins. Par une description pas à pas des gestes techniques à réaliser, images à l'appui. Les techniques qui y sont décrites permettront en effet aux praticiens d'enrichir leur arsenal de protocoles d'examens et d'en affiner les procédures.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. ADOMEFA K; BONTIBITE BADJARE M. (2009). Guide des bonnes pratiques de collecte, de gestion et d'envoi des échantillons au niveau régional et international, dans le cadre des activités du projet OSRO/TOG/801/EC financé par l'Union Européenne et exécuté par la FAO. Pages : 3-7.
2. ANONYME. (1984) révisé en 2004. Ministère des Pêches et Océans Canada. Règlement sur la protection de la santé des poissons : guide de procédures. Serv. pêches mar. Publ. div. spéc. 31 (avec ajout de modifications) : iv + 50 p.
3. ANONYME. (2004). Ministère des pêches et des océans du Canada : modèle de formation pour utilisateurs d'animaux : 1-6.
4. ANONYME. PNF sur les poissons. Adoptées à la réunion du 17 avril 2008, résolution UQAR-CPA-33-67 Pages : 2-5
5. BEUGNET F; DANG H; POLACK B. (1995). Interprétation de l'analyse coproscopique. IN : Atlas de coproscopie, éditions Kalianxis, Pages : 259-269.
6. BOURDOISEAU G. L'HOSTIS M. (1995). Les babésioses bovines .Le point vétérinaire. 27 (168) Pages : 125-131
7. BOURDOISEAU.G ; PIN.D.(2009). Examens complémentaires en dermatologie du chien et de chat. Le manuel du vétérinaire. Edition Tsunami. Pages : 1-5.
8. BRUGERE-PICOX.J ; SILIM.A. (1992). Manuel de pathologie aviaire. Pages: 43-381
9. BULLIOT .C. Nouveaux animaux de compagnie aide aux soins. Editions du point vétérinaire
10. BULLIOT C. (2001). le boa constrictor (*boa constrictor*) : maintien en captivité, consultation et dominantes pathologiques. Thèse Alfort.
11. CADILLON. J, CHAUMONT.L. Manuel des inoculations et prélèvements chez les animaux de laboratoire. P : 19-22
12. CHERIF.A, BOUSLAMA. (2001). les prélèvements en aviculture. El baytary n°26-Avril .P : 22-26.
13. CHUZEL T. Le frottis sanguin : ses rapports et ses limites. Le point vétérinaire 2003 34(238), Pp : 28-36
14. Claire T. particularités cliniques et difficultés thérapeutiques rencontrées chez les oiseaux et les reptiles de compagnie – apports de la pharmacovigilance et étude de cas. année 2007.
15. COLES E H(1979). Le laboratoire en clinique vétérinaire. Editions VIGOT.PP:429,431
16. COTARD, 1984.VANPELT, 1965.Cité par Brinker et al. 1986. Pathologie ostéo articulaire chez les carnivores domestiques P : 2
17. DAVID Cécile caroline Nicole. Enquête au sein des parcs zoologiques européens sur la pathologie des singes atèles. Thèse médecine vétérinaire. Alfort 2005. Pages 52-85

18. DE KINKELIN P., MICHEL C., GHITTINO P. (1985) Précis de pathologie des poissons. INRA/OIE, Paris, 230-236
19. DE KINKELIN P ; GERARD J P. Prélèvement d'échantillon de poissons destinés aux examens de laboratoire .pages :117-121. <http://www.kmae-journal.org> or <http://dx.doi.org/10.1051/kmae:1981027>
20. Delphine, Denise, Jacqueline SAINT RAYMOND – MOYNAT. Les affections cutanées des reptiles Année 2008
21. DENISET P. (2007). Ponction de liquide cérébro-spinal et maladies inflammatoires du système nerveux central : étude rétrospective à l'école nationale vétérinaire d'Alfort de 1996 à 2005. Pages : 29-53
22. ELLEOUEY Elodie, Caroline, Elisabeth. Inventaire des tests diagnostiques utilisables chez les félinés non domestique de parcs zoologiques : application à la quarantaine et au transport. Thèse Toulouse 2007. Pages :66-68
23. EMIE A. Bulletin de l'Alliance Pastorale N°792(2009).Les examens complémentaires en médecine vétérinaire. Pp : 2,3
24. ETIENNE B. (2009). comment échantillonner une ruche. CARL asbl.
25. FRENEY J., RENAUD F., HANSEN W., BOLLET C. (1994).Manuel de Bactériologie Clinique. 2ème éd. Elsevier. Paris.
26. GAUTIER André. (1974) Les examens de laboratoire en pratique vétérinaire. Pp : 23-76
27. GEOLLOT S. MAURIAT L VANHOSBEKEO. (2005). Le geste technique en médecine des bovins, ovins, caprins : aspects théoriques et pratiques en vue de la réalisation d'un DVD ROM. Thèse vétérinaire Alfort.
28. GERARD.J.P. Le mode d'expédition des poissons et des prélèvements d'organes a un laboratoire p : 146-148.
29. GOGNY-GOUBERT M. (1982) Guide pratique des examens complémentaire des animaux de compagnie, P : 4-75
30. GOUDREAU F. (2007).Les prélèvements utiles au praticien en médecine bovine. Thèse vétérinaire Alfort, p : 25-70
31. GRANGET E. (2003). Les aspects techniques de l'exercice de la médecine et de la chirurgie des animaux dans le cadre du mandat sanitaire. Thèse médecine vétérinaire Lyon , pages : 26-27
32. GUATTEO R. (2007).Prélèvements chez les bovins. Les éditions du point vétérinaire, ISSN : en cours, novembre, p : 13-127.
33. GUERIN J L. (2011).réalisation de prélèvements biologiques sur les volailles. Ecole national vétérinaire Toulouse.vidéo. www.avicampus.fr

34. HEBERT Fabrice. (2006). Guide pratique de médecine interne canine et féline. Editions MED'COM. 2ème édition. P : 504
35. KARRIE R; SCOTT N; UHART M; LUBROTH J. (2007). Surveillance de la grippe aviaire hautement pathogène chez les oiseaux sauvages. FAO. Pages : 25
36. KECK N ; FOURRE C ; GERVAIS B. (2010). Direction générale des services Pôle éducation et patrimoine Laboratoire départemental vétérinaire .Instructions de prélèvement recherche de maladies virales de poissons. P :1-2
37. KONTE M ; VASSILIADES G ; LE FORBON. (1990).prélèvements biologiques pour analyse au laboratoire Vol 4 N°4 1990. P : 11-18
38. LABRUT S. (2009). réussir l'examen clinique des poissons. la dépêche vétérinaire n°1040.
39. LABTUT F. (2009).L'éléphant domestiqué au Laos. Aspects culturel et socio-économique, situation sanitaire et conservation de l'espèce. Thèse médecine vétérinaire Alfort, P : 218-244.
40. L'HOSTIS M. (1997). Babesia divergens. Le point vétérinaire. 28(numéro spécial. Parasitologie des ruminants) 1794-1795
41. L'HOSTIS M. (2003) Diagnostic des hémoparasitoses bovines. Le point vétérinaire, 34 (numéro spécial : examen paracliniques chez les bovins) P : 138-141
42. MARCELO S, Mariano Bacci. Trámites en Apicultura. 2004. Pages : 10-15
43. Marie-France CH. Carnet clinique des reptiles. Thèse alfort. 2004
44. MEDAILLE Ch. (2002).Vade-mecum des analyses vétérinaires. Editions MED'COM, P: 8-146.
45. MEDAILLE Ch.; BRIEND-MARCHAL A. (2008).Guide pratique des analyses biologiques vétérinaires. Editions MED'COM, P : 14-34.
46. MERMET N ; Pascale. Causes de mortalité chez les primates en parc zoologique français. Thèse médecine vétérinaire. Alfort 2003.Pages :35-39
47. MICHEL.J.F. BERNARDET, J.CASTRIC, J.P.JOLY. INRA 2007.Les techniques de diagnostic en santé des espèces aquacoles : intérêt et limites.
48. MIDTLING P.J; BLEIE H. et al (2000) Nordic manual for the surveillance and diagnosis of infectious diseases in farmed salmonids. Nordic Council of Ministers, Copenhagen, 94pp
49. MORCEL F N. (2010). L'entraînement médical chez les animaux de parc zoologique application chez les animaux d'Afrique. Thèse Toulouse .P : 35, P : 71-73
50. OIE. (2011). Maladies des animaux aquatiques. P : 7-17.
51. OIE. (2008).Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres. Pp : 4-1237.
52. OUEYROY J, H, A. (2007) .Diagnostic étiologique des polyarthrites canines synthèse
bibliographique et étude rétrospective .Thèse Alfort, Pages : 41-45

53. PERSONNE L. (2005). Démarche diagnostique des infections respiratoire félines. Thèse Alfort, pages : 120-121
54. PIC E S. (2006). L'aspiration trans-trachéale chez les bovins : réalisation et interprétation. Thèse vétérinaire Alfort, pages: 13-75
55. ROSENBERGER G. (1979). Examen clinique des bovins. Le point vétérinaire, pages: 312-415
56. SELLAL E. (2003). Une méthode pour dépister le BVD même chez les veaux. Le point vétérinaire, pages : 12-13
57. UHLAND C ; MIKAELIAN I; MARTINEAU D.(2000). Maladies des poisons d'eau douce du Québec. Saint-Laurent. Les presses de l'université de Montréal. P :255-274
58. VERHELST S. (2003). Guide pratique ASV, examens complémentaire. Le point vétérinaire. Pages : 93-174.
59. bacterioweb.univ-fcomte.fr/bibliotheque/remic/01-Phase.pdf. (Consulté le 19/06/2011).
60. www.dpi.nsw.gov.au/agriculture/livestock/honey-bees/compliance/samples.(Consulté le 23/06/2011).
61. www.idexx.fr/santeanimale/fiches/micro1.pdf.(Consulté le 20/07/2011).
62. www.medvet.umontreal.ca.(Consulté le 26/07/2011).
63. www.medvet.umontreal.ca/etudes/enseignementligne/dmv2120/dmv2120_travaux_prat.pdf.(Consulté le 01/08/2011).
64. www.vetoonline.com(Consulté le 12/08/2011).
65. houstonzooblogs.org/elephant/tag/blood. (Consulté le 20/08/2011).
66. M9800147-Turtle Blood Sampling-SPL. (Consulté le 22/08/2011).
67. wildlifeResearch07.(Consulté le 28/08/2011).