Laboratoire départemental vétérinaire
306 rue Croix de las Cazes
CS 69013
34967 MONTPELLIER CEDEX 2
T : 04 67 67 51 40
M : ldv34@herault.fr

Instructions de prélèvement

Recherche de maladies virales des poissons par culture cellulaire et PCR

Les consignes de prélèvement sont issues de données publiées dans des textes réglementaires ou de référence. Les prélèvements réalisés dans le cadre de la surveillance des établissements aquacoles doivent respecter les préconisations de l'instruction technique DGAL/SDSBEA/2026-201. Les visites et prélèvements doivent être effectués à une période propice à l'expression de la maladie, c'est-à-dire en eau froide (température < 14°C) et à au moins 4 mois d'intervalle. Si des truites arc-en-ciel sont présentes, c'est uniquement cette espèce qui doit être prélevée. Sinon, l'échantillon doit être représentatif des espèces répertoriées présentes sur le site. Dans tous les cas, l'échantillon doit être représentatif des différents stades physiologiques et des différents circuits d'eau.

1. Dans la mesure du possible, nous souhaitons être prévenus à l'avance de l'envoi de prélèvements.

2. Types de prélèvements :
   - Les poissons vivants doivent être placés dans un sac plastique scellé contenant de l'eau surmontée d'oxygène (1/3 d'eau, 2/3 d'oxygène). L'eau doit couvrir les poissons quand le sac est couché.
   - Les poissons morts doivent être égouttés, enroulés de papier absorbant, puis emballés dans un emballage hermétique.
   - Les organes (rate, rein antérieur, encéphale et/ou cœur pour les rhabdoviroses des salmonidés) ou liquides cœlomiques doivent être prélevés le plus stérilement possible et placés en flacons stériles. Sur les gros poissons, ne pas prélever tout l'organe mais environ 3 mm^3 de chaque organe. La quantité de tissus pour un lot doit peser au moins 0.5 gramme (*). Si vous observez des lésions compatibles avec une maladie virale lors de l'autopsie, merci de nous le signaler dans la rubrique « Problèmes sanitaires actuels ».
   - Chaque contenant doit être identifié le plus précisément possible.
   - Liste des matrices utilisables pour la culture cellulaire et la PCR :

Virus	Pour culture cellulaire	Pour PCR
SHV NHI NPI	• Surnageant de culture cellulaire • Broyat d'organes de poissons • Broyat de poissons • Broyat d'œufs de poissons • Liquide cœlomique	• Surnageant de culture cellulaire • Broyat d'organes de poissons • Broyat de poissons • Broyat d'œufs de poissons • Liquide cœlomique de poissons • Sperme de poissons
Autres virus	Contacter le laboratoire	

3. Renseignement de la fiche de demande d'analyses (exemplaires joints) :
   - Nous vous demandons de bien vouloir renseigner le plus précisément la fiche de demande d'analyses (document qualité : LDV-FE-020 accessible sur notre extranet), particulièrement le tableau situé au verso de ce document.
   - Pour les espèces utiliser les abréviations suivantes : TAC : Truite Arc en Ciel, TRF : Truite Fario, SDF : Saumon de Fontaine, OBL : Omble Chevalier, SAT : Saumon d'Atlantique, OBR : Ombre commun, CYP : Cyprinidé, ANG : Anguille.
   - Pour les catégories, merci d'utiliser le vocabulaire suivant : œufs, liquides cœlomiques, alevins (si taille < 6cm), truitelles, portions, géniteurs.
   - La colonne nbre/lot correspond au nombre de poissons prélevés pour le lot dans un flacon (au maximum 10 poissons)

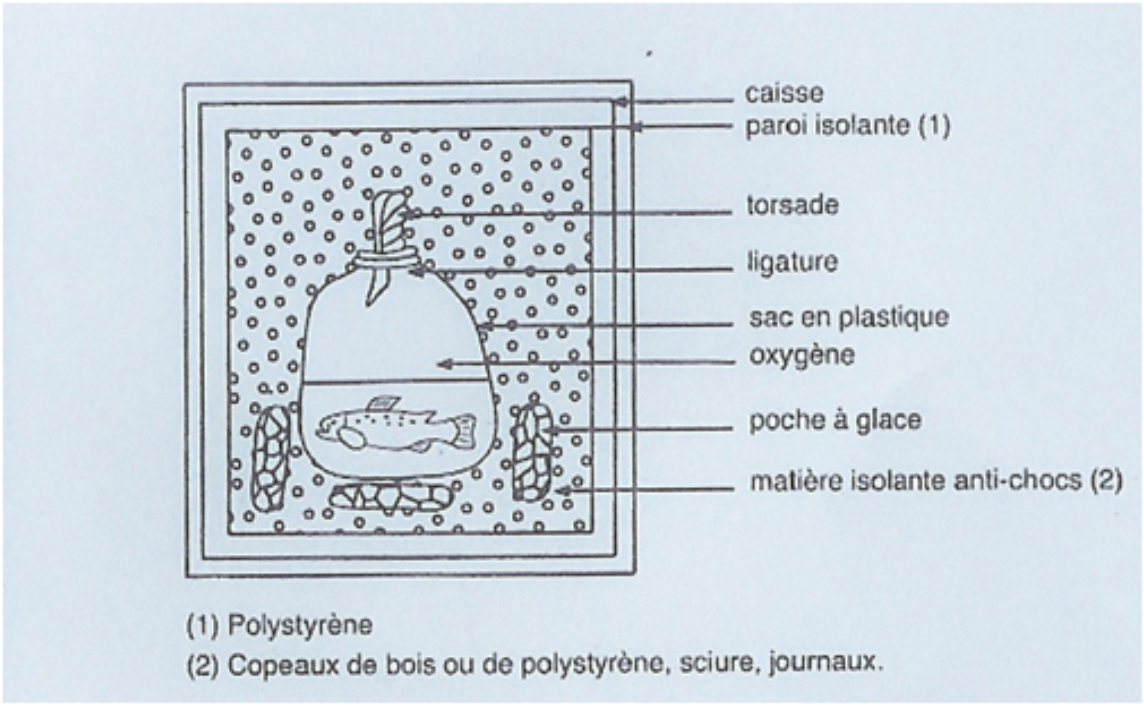
4. Conditions de conservation et acheminement :

Généralité	
• Les prélèvements peuvent être acheminés par transporteur ou être déposés au laboratoire aux heures d'ouverture. • Les salmonidés vivants (ou autres espèces d'eau froide) doivent être expédiés dans un contenant étanche et isolé en présence d'éléments réfrigérants • Les poissons morts, organes, liquides cœlomiques doivent être acheminés dans un contenant isolé sous le régime du froid positif. La température de transport ne doit pas excéder 14°C (*) • Les prélèvements doivent toujours être accompagnés d'une demande d'analyse	
Pour culture cellulaire	**Pour PCR**
• Les prélèvements doivent être acheminés au laboratoire dans un délai de 24 heures • Les échantillons ne doivent pas être congelés (*)	• Les prélèvements frais doivent être acheminés dans un délai <48h • Les prélèvements congelés doivent être acheminés dans les 14j et ne doivent pas être sujet à une rupture de la chaîne du froid (*)

(*) Critère contrôlé au laboratoire entraînant l'émission de réserves en observation sur le rapport d'analyses

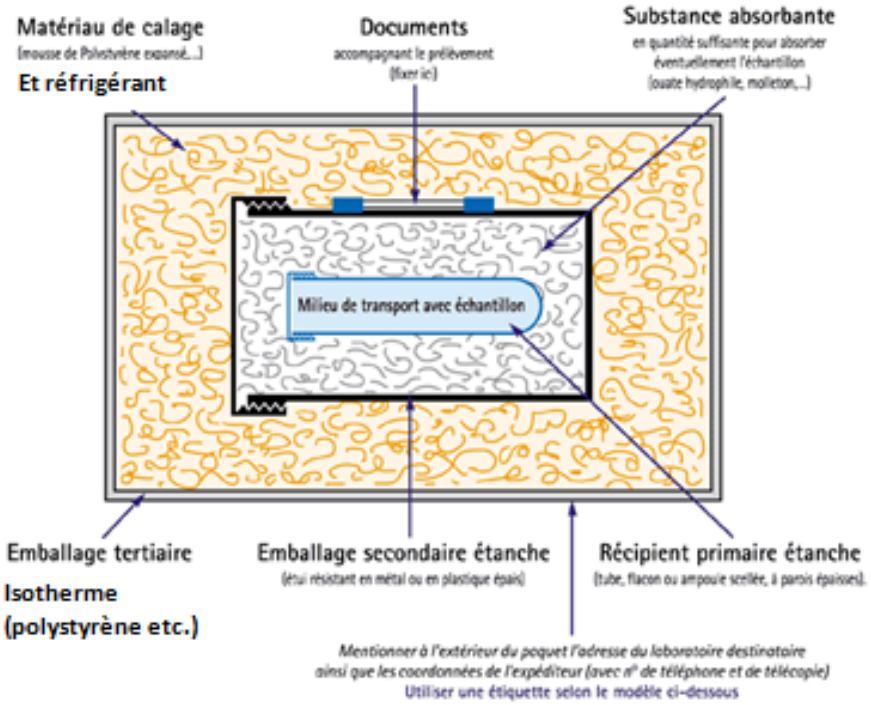
Exemples de conditionnement :

1) Poissons vivants



(1) Polystyrène
(2) Copeaux de bois ou de polystyrène, sciure, journaux.

2) Organes, liquides cœlomiques



5. L'examen virologique doit commencer au plus tard 48 heures après la collecte des échantillons

Culture cellulaire : Les analyses consistent en deux passages de 7 à 10 jours sur cultures cellulaires sensibles aux virus à rechercher. Le délai minimum de réponse est donc d'environ 20 jours.

PCR : Les analyses consistent à une extraction de l'ADN et son amplification. Le délai moyen de réponse est de 5 jours ouvrés.

Pour toute demande d'informations complémentaires, vous pouvez contacter le laboratoire départemental de l'Hérault au 04.67.67.51.40.

Contacts :

Unité Virologie	Unité PCR
Nicolas Keck (Directeur) ➔ nkeck@herault.fr	
• Céline Fourré (Technicienne) ➔ cfourre@herault.fr	• Marine Beraud (Technicienne) ➔ mberaud@herault.fr • Justine Masi (Technicienne) ➔ jmasi@herault.fr