

# PLATEFORME DE BIOLOGIE IN VIVO

## PROCÉDURE NORMALISÉE DE FONCTIONNEMENT (PNF)

TITRE :		NO PNF :	
PRÉLÈVEMENTS SANGUINS		800-STA-06	
DATE D'ENTRÉE EN VIGUEUR :	RÉVISION :	DATE :	PAGE :
2004-10-01	7	2023-12-18	1 DE 12

### APPROBATION

DIRECTRICE DES OPÉRATIONS :	SIGNATURE :	DATE :
Manon Valiquette		2023-12-18
CHEF DE SERVICES VÉTÉRINAIRES :	SIGNATURE :	DATE :
Julie Gervais		2023-12-18

PROCÉDURE NORMALISÉE DE FONCTIONNEMENT (PNF)		
TITRE :	PRÉLÈVEMENTS SANGUINS	NO PNF : 800-STA-06
DATE D'ENTRÉE EN VIGUEUR : 2004-10-01	RÉVISION : 7	DATE : 2023-12-18
		PAGE : 2 DE 11

## TABLE DES MATIÈRES

### 1.0 INTRODUCTION

- 1.1 Objectif
- 1.2 Application
- 1.3 Information générale
- 1.4 Droit d'accès
- 1.5 Matériel
- 1.6 Définitions

### 2.0 MÉTHODES/PROCESSUS

- 2.1 Généralités
- 2.2 Procédures
- 2.3 Volumes acceptables de prélèvements

### 3.0 RÉFÉRENCES

### 4.0 FORMULAIRE

PROCÉDURE NORMALISÉE DE FONCTIONNEMENT (PNF)			
TITRE : PRÉLÈVEMENTS SANGUINS		NO PNF : 800-STA-06	
DATE D'ENTRÉE EN VIGUEUR : 2004-10-01	RÉVISION : 7	DATE : 2023-12-18	PAGE : 3 DE 11

## 1.0 INTRODUCTION

### 1.1 Objectif

Décrire une procédure normalisée de fonctionnement pour les prélèvements sanguins chez les rongeurs (procédures, sites et volumes maximums).

### 1.2 Application

Cette PNF est une directive de l'administration de la plateforme de biologie In Vivo (PBIV) et doit être appliquée par tous les employés et les usagers de l'animalerie.

### 1.3 Information générale

Lorsqu'une personne fait face à une situation où cette PNF ne peut être respectée, elle doit immédiatement en référer à son supérieur.

Cette PNF respecte en tout temps les règles régies par les responsables de la santé et sécurité au travail (SST) de l'Université de Montréal.

### 1.4 Droit d'accès

1.4.1 Tout usager devra :

- A) Lire les PNF.
- B) Suivre une formation sur place donnée par une personne dûment mandatée.
- C) S'acquitter de ses responsabilités.

1.4.2 Responsabilités

Les personnes ayant accès à la PBIV sont responsables de la qualité de leur environnement, de la sécurité qui y règne et de son entretien minimal. Tout comportement fautif ou négligent face aux animaux ou aux équipements sera rapporté au Chef de service vétérinaire ou à la directrice des opérations – plateformes scientifiques. Cette personne pourrait se voir interdire l'accès à la plateforme.

### 1.5 Matériel

1.5.1 Appareil/Instrument/Équipement

- Gants
- Alcool isopropylique 70 %.
- Tampon en tissu stérile (p. ex. : gaze ou ouate)
- Rasoir (optionnel)
- Glace
- Système de contention approprié, s'il y a lieu

PROCÉDURE NORMALISÉE DE FONCTIONNEMENT (PNF)			
TITRE : PRÉLÈVEMENTS SANGUINS		NO PNF : 800-STA-06	
DATE D'ENTRÉE EN VIGUEUR : 2004-10-01	RÉVISION : 7	DATE : 2023-12-18	PAGE : 4 DE 11

- Lactate de Ringer ou saline 0.9 %, le cas échéant
- Aiguille et seringue de calibre approprié
- Aiguille hypodermique/papillon si approprié
- Agent anesthésique topique si nécessaire
- Dispositif chauffant (lampe, tapis ou chauffe-mains)
- Vacutainer
- Tubes de collecte approprié selon l'espèce, le volume et la nature du prélèvement (Minivette™, capillaires, etc)

#### 1.5.2 Formulaires spécifiques à cette PNF

N/A

#### 1.5.3 Autres PNF reliées

800-STA-11; Anesthésie des rongeurs

800-STA-12; Analgésie des rongeurs

800-STA-20; Manipulation et contention des rongeurs

### 1.6 Définitions

#### 1.6.1 Définitions spécifiques

N/A

## 2.0 MÉTHODES/PROCESSUS

### 2.1 Généralités

Une technique de prélèvement doit être sécuritaire pour le manipulateur, minimiser les traumatismes et le stress chez l'animal, et permettre de minimiser les pertes de sang non récolté.

Les tubes de prélèvements doivent être bien identifiés : numéro de l'étude, identification de l'animal, date et nature du prélèvement. On doit aussi documenter individuellement chaque prélèvement dans le dossier de l'animal (site de ponction, volume retiré, heure du prélèvement, etc.)

Les prélèvements ne doivent pas être effectués sur une région présentant un hématome, une lésion cutanée ou de l'inflammation.

Un maximum de 4 ponctions par jour avec un maximum de 2 ponctions par site peut être effectué. Exceptionnellement, des animaux participants à une étude de cinétique peuvent être soumis à plus de prélèvement par période de 24h. L'horaire des prélèvements doit être approuvé par le vétérinaire et respecter le volume maximal total permis pour la période visée.

PROCÉDURE NORMALISÉE DE FONCTIONNEMENT (PNF)			
TITRE : PRÉLÈVEMENTS SANGUINS		NO PNF : 800-STA-06	
DATE D'ENTRÉE EN VIGUEUR : 2004-10-01	RÉVISION : 7	DATE : 2023-12-18	PAGE : 5 DE 11

On doit valider avec le vétérinaire si un animal âgé, pâle, abattu ou déshydraté peut être prélevé.

Lorsque le volume de prélèvement est supérieur à 10 % du volume sanguin total de l'animal, des fluides de remplacement tièdes (0.9 % saline, LRS) doivent être administrés suivant le prélèvement à raison de 2 volumes de saline pour 1 volume de sang prélevé (excepté dans le cadre d'étude pharmacocinétique).

Il peut être utile d'appliquer une crème anesthésiante topique (Ex : EMLA) au site de ponction au moins 30 minutes avant de procéder. Si le prélèvement doit être répété, la crème anesthésiante peut être réappliquée aux 2 heures.

Lorsqu'on manipule des aiguilles ou autres objets piquants, il est important de ne pas replacer le capuchon sur l'aiguille et s'en départir dans un récipient sécuritaire (objets piquants/tranchants).

## 2.2 Procédures

### Veine saphène

- Ce site peut être utilisé chez le rat, la souris, et le cobaye;
- Aucune anesthésie n'est nécessaire;
- Ce type de prélèvement peut être effectué de manière répétitive (sans excéder le maximum permis).
- Faire entrer l'animal dans un tube à contention;
- Maintenir un des membres postérieurs à l'extérieur du tube en faisant un garrot sur la cuisse avec les doigts;
- Épiler ou raser la région de la veine saphène;
- Appliquer un corps gras (ex: gelée de pétrole, etc.) sur la surface épilée;
- Perforer la veine saphène à l'aide d'une aiguille 25G (souris et cobaye) ou 20G (rat);
- Récolter les gouttes de sang qui se forment à l'aide d'un tube à prélèvement approprié. Respecter le volume sanguin maximal pouvant être prélevé (prendre en compte les gouttes de sang non récoltées);
- Relâcher le garrot et faire une pression sur la veine avec une gaze jusqu'à l'arrêt des saignements;
- Retourner l'animal dans sa cage et vérifier l'absence de saignement.

### Veine de la queue (Ponction à l'aiguille)

- Mettre la souris ou le rat dans un tube de contention appropriée en laissant sortir la queue de l'animal;
- Nettoyer la queue au besoin avec de l'eau tiède ou une solution désinfectante (ex : chlorhexidine 0,05%);

Note : Réchauffer la queue via une lampe à lumière infrarouge, un tapis chauffant ou un chauffe-main peut faciliter le prélèvement. Il n'est pas nécessaire de l'utiliser pour de petite quantité de sang comme pour la prise de glycémie. La lampe chauffante doit être utilisée au minimum en raison du risque de brûlure (les signes apparaissant plusieurs jours plus tard), ou de choc par hyperthermie.

PROCÉDURE NORMALISÉE DE FONCTIONNEMENT (PNF)			
TITRE : PRÉLÈVEMENTS SANGUINS		NO PNF : 800-STA-06	
DATE D'ENTRÉE EN VIGUEUR : 2004-10-01	RÉVISION : 7	DATE : 2023-12-18	PAGE : 6 DE 11

- Piquer la veine caudale latérale ou le bout de la queue (ne pas couper le bout de la queue) avec une aiguille 25 G pour une souris et 22 G pour le rat. Si le sang ne coule pas, masser doucement de la partie proximale vers la partie distale;
- Contrôler le saignement par pression avec une gaze, et remettre l'animal dans sa cage;
- Si vous devez reprendre du sang plus tard le même jour, massez doucement la queue de la partie proximale vers la partie distale à l'aide d'une gaze afin de ne pas irriter la peau, repiquez seulement si vous n'avez pas de sang. Attention un massage trop important sur la queue cause de l'inconfort à l'animal.

### **Veine jugulaire (rat seulement)**

- Prendre le rat avec le pouce et le majeur en ramenant ses épaules vers l'arrière. Avec l'index, ramener sa tête vers l'arrière. Au besoin, utiliser une serviette autour des pattes arrières de l'animal pour qu'il ne puisse plus bouger;
- Prendre la seringue avec aiguille 23G 1'' et piquer vis-à-vis la rosette de l'épaule du rat à un bouchon d'aiguille de distance de sa clavicule;
- Aspirer lentement, la veine est assez superficielle;
- Lorsque terminé, retirer l'aiguille et appuyer sur le site de la jugulaire pour éviter la formation d'un hématome.
- Attention, la contention provoque une tension de la peau au niveau de la gorge de l'animal, si elle se prolonge l'animal peut étouffer. Soyez vigilant, si l'animal montre de signes d'inconfort relâchez-le immédiatement.

\*\* Une technique de prélèvement sanguin jugulaire chez la souris est aussi possible. Toutefois, la technique est difficile à maîtriser et stressante pour l'animal. Autant que possible, mieux vaut choisir une autre voie de prélèvement chez la souris. Dans l'impossibilité d'une alternative, seule une personne expérimentée peut pratiquer cette technique, avec l'accord du vétérinaire.

### **Veine mandibulaire (souris seulement)**

- Prendre la souris par la contention de base, vous devez toutefois avoir une bonne prise cutanée (surtout de la peau à l'arrière des oreilles), l'œil sera alors légèrement proéminent de l'orbite, la bouche de la souris sera ouverte et les pattes avants seront étirées vers les côtés. La tête doit être en ligne droite avec le reste du corps de la souris;
- Prendre une lancette (3 mm) ou une aiguille 23G. La lancette peut être pliée avec un angle d'environ 30 degrés pour faciliter la manipulation de celle-ci;
- Piquer au niveau de la rosette de la joue en dirigeant la lancette ou l'aiguille entre le nez et l'œil de la souris. Le bout de la lancette doit être presque parallèle à la joue, en particulier si la souris est petite. Il faut donc piquer la joue avec un angle minime. La partie concave de la lancette doit être dirigé vers la joue;

PROCÉDURE NORMALISÉE DE FONCTIONNEMENT (PNF)			
TITRE : PRÉLÈVEMENTS SANGUINS		NO PNF : 800-STA-06	
DATE D'ENTRÉE EN VIGUEUR : 2004-10-01	RÉVISION : 7	DATE : 2023-12-18	PAGE : 7 DE 11

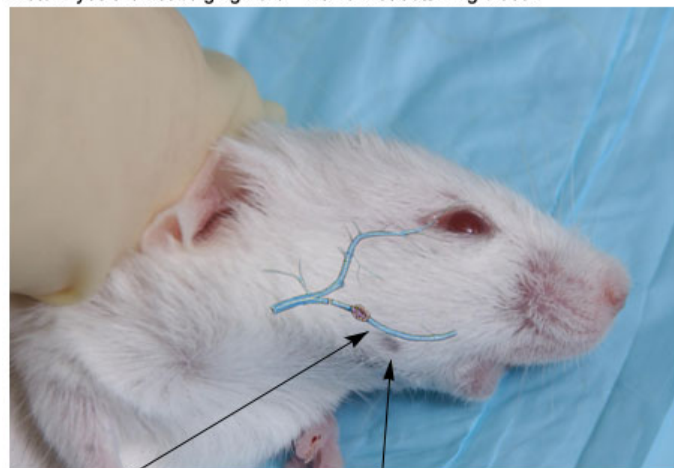
- Introduire le bout de la lancette au complet. S'il s'agit d'une aiguille, introduire seulement le biseau;
- Récolter le sang avec un tube de prélèvement;
- Attention la souris peut saigner beaucoup, ne pas dépasser la quantité de sang que vous devez récolter;
- Normalement la souris cessera de saigner dès que vous la relâcherez.

#### Problèmes fréquents :

- Si la souris pousse la lancette avec sa patte avant ou se débat avec ses pattes arrières: prendre une meilleure prise cutanée entre les doigts;
- La souris ne saigne pas: prendre une meilleure prise cutanée entre les doigts. On peut repiquer plus d'une fois dans la joue de la souris (2 fois maximum par joue), mais il est important de réintroduire la lancette dans le même trou que lors du premier essai;
- La langue et les lèvres de la souris deviennent bleues ou la souris respire de façon anormale: relâcher la contention et laisser une pause à la souris avant de la manipuler de nouveau (essayer de prendre une moins grande prise cutanée);
- La souris ne cesse pas de saigner: faire une compression au niveau du site de prélèvement. Si le saignement est important et rapide, vérifier la joue, car il est possible qu'un hématome se forme. Si c'est le cas, vérifier que l'hématome se résorbe bien et surtout, ne pas repiquer la joue de la souris.

**Note importante :** Cette technique mal exécutée peut causer de graves blessures à la souris, ne la faites pas si vous ne la maîtrisez pas. Demandez de l'aide ou optez pour une autre technique.

Note: Eyes are not bulging here. Risk of not obtaining blood.



Freckle. Easily seen on white mice, also visible on dark mice.

Facial Vein. Your target blood vessel, running just along the bottom of the mandible (jaw).

PROCÉDURE NORMALISÉE DE FONCTIONNEMENT (PNF)			
TITRE : PRÉLÈVEMENTS SANGUINS		NO PNF : 800-STA-06	
DATE D'ENTRÉE EN VIGUEUR : 2004-10-01	RÉVISION : 7	DATE : 2023-12-18	PAGE : 8 DE 11

### **Cardiaque (procédure terminale)**

Procéder à l'anesthésie profonde et terminale de l'animal (sans réveil).

Vérifier la profondeur de l'anesthésie par l'absence de réflexe palpébral (mouvement des paupières suite au toucher de la peau aux coins des yeux) et de réaction de retrait (aucune tension ou mouvement d'un membre suite au pincement de la peau entre les oreilles à l'aide d'une pince).

- Insérer une aiguille dans l'angle gauche formé par le sternum et la dernière côte. Pénétrer la peau avec un angle de 45°.
- Pour les souris : avec une seringue de 1 à 3 ml, retirer jusqu'à 1 ml de sang.
- Pour les rats : avec une seringue de 20 ml, retirer jusqu'à 10 ou 15 ml de sang selon le poids de l'animal.

Pour d'autres rongeurs, procéder à l'ouverture de l'abdomen et à un pneumothorax, puis à une ponction cardiaque directe à l'aide d'une aiguille 1 ½ po 21-23G. De façon alternative, placer l'animal anesthésié en décubitus dorsal, et insérer une aiguille Vacutainer 20-22G, parallèlement au sternum, dans l'angle gauche formé par le sternum et la dernière côte. Note : Comme cette procédure est terminale, il n'est pas nécessaire de respecter les volumes maximums à prélever.

### **Veine cave et aorte abdominale (procédure terminale)**

Procéder à l'anesthésie profonde et terminale de l'animal (sans réveil).

- Vérifier la profondeur de l'anesthésie par l'absence de réflexe palpébral (mouvement des paupières suite au toucher de la peau aux coins des yeux) et de réaction de retrait (aucune tension ou mouvement d'un membre suite au pincement de la peau entre les oreilles à l'aide d'une pince).
- Ouvrir l'abdomen de l'appendice xiphoïde au pubis.
- Déplacer la masse intestinale vers l'avant ou le côté de façon à dégager l'aorte abdominale ou la veine cave, sous le foie.
- Pour les souris, insérer une aiguille 23G dans l'aorte abdominale ou la veine cave et avec une seringue de 1 à 3 ml, retirer environ 1 ml de sang.
- Pour les rats, insérer une aiguille 21 G dans l'aorte abdominale ou la veine cave et avec une seringue de 20 ml, retirer jusqu'à 10 ou 15 ml de sang selon le poids de l'animal.



PROCÉDURE NORMALISÉE DE FONCTIONNEMENT (PNF)			
TITRE : PRÉLÈVEMENTS SANGUINS		NO PNF : 800-STA-06	
DATE D'ENTRÉE EN VIGUEUR : 2004-10-01	RÉVISION : 7	DATE : 2023-12-18	PAGE : 9 DE 11

Note : Comme cette procédure est terminale, il n'est pas nécessaire de respecter les volumes maximums à prélever.

### 2.3 Volumes acceptables de prélèvement

- La capacité de l'organisme à remplacer le volume sanguin prélevé et à régénérer les globules rouges retirés de la circulation impose le volume et la fréquence des échantillonnages sanguins.
- Le volume sanguin est calculé en fonction du poids corporel et varie de 5.5 à 7 % du poids corporel. Le volume sanguin d'un animal malade, obèse ou âgé est inférieur à celui d'un animal jeune et en santé.
- Il est important de considérer le volume de sang perdu en lien avec la technique de récolte lorsque l'on calcule le volume sanguin à prélever. Il faut en tenir compte pour ne pas dépasser le volume maximal permis.

Ex. 0.1 ml nécessaire pour les besoins expérimentaux, mais prévoir une perte d'environ 3 gouttes de sang lors de la récolte par capillaire. **Une goutte de sang équivaut environ à 0.05 ml de sang.**

➤ Volume qui sera retiré =  $0.1 \text{ ml} + (3 \times 0.05 \text{ ml}) = 0,25 \text{ ml}$

- **On doit toujours viser un volume de prélèvement maximal de 10% du volume sanguin sur une période de 24 heures ou de 28 jours.**

➤ **Volume sanguin en L = poids en kg X 6%**

➤ **Volume sanguin en ml = poids en g X 6%**

- **Ex. : Souris de 25 g X 6% = 1,5 ml de volume sanguin**

**$10\% \times 1,5 \text{ ml} = 0,150 \text{ ml}$  de sang pouvant être prélevé (incluant les pertes)**

- De façon exceptionnelle, lorsque justifié au protocole et approuvé par le CDEA, il est possible de prélever jusqu'à 15% du volume sanguin sur une période de 24 heures ou de 28 jours. En considérant les pertes de sang relié à la technique de prélèvement, le pourcentage de sang perdu par l'animal pourrait alors s'approcher de 20% de son volume sanguin. Noter que le prélèvement d'un tel volume (20% du volume sanguin total) sur une courte période peut engendrer un choc hypovolémique. Si étalée dans le temps, le prélèvement d'un tel pourcentage du volume sanguin, peut engendrer une anémie. Il est essentiel de s'assurer que lors du prélèvement d'un tel pourcentage du volume sanguin (sur 24 heures ou 28 jours), les animaux soient en santé (ex. bien hydratés, sans anomalie possible de la tension artérielle, sans

PROCÉDURE NORMALISÉE DE FONCTIONNEMENT (PNF)			
TITRE : PRÉLÈVEMENTS SANGUINS		NO PNF : 800-STA-06	
DATE D'ENTRÉE EN VIGUEUR : 2004-10-01	RÉVISION : 7	DATE : 2023-12-18	PAGE : 10 DE 11

inflammation ni infection, avec capacité cardiaque normale). De plus, lorsque prélevé dans une période de 24 heures, le volume prélevé doit immédiatement être remplacé par le double du volume, à l'aide de fluides physiologiques tempérés (ex. saline stérile ou lactate de Ringer à température du corps ou minimalement à température pièce) administrés en injection sous-cutanée.

- Tout animal démontrant des signes cliniques attribuables à l'hypovolémie suite à une prise de sang, indépendamment du volume prélevé, devra immédiatement recevoir un volume équivalent au double du volume sanguin prélevé, de fluides physiologiques administrés en injection sous-cutanée (voir point précédent pour plus de détails).

➤ **Signes cliniques d'hypovolémie observables chez les rongeurs: faiblesse, pâleur, respiration rapide et superficielle.**

## 7.2 Tableau du volume sanguin et des volumes de prélèvements maximum pour les rongeurs selon le poids corporel.

Poids corporel(g)	Volume sanguin (ml) (5,5% - 7% du poids corporel)	Volume (ml) de prélèvement maximum recommandé 10%	Volume (ml) de prélèvement maximum à ne pas dépasser 15%
20	1.10 - 1.40	0.11 - 0.14	0.17 - 0.21
25	1.37 - 1.75	0.14 - 0.18	0.21 - 0.26
30	1.65 - 2.10	0.17 - 0.21	0.25 - 0.32
35	1.93 - 2.45	0.19 - 0.25	0.29 - 0.37
40	2.20 - 2.80	0.22 - 0.28	0.33 - 0.42
125	6.88 - 8.75	0.69 - 0.88	1.03 - 1.31
150	8.25 - 10.50	0.83 - 1.1	1.24 - 1.58
200	11.00 - 14.00	1.1 - 1.4	1.65 - 2.1
250	13.75 - 17.50	1.4 - 1.8	2.06 - 2.63
300	16.50 - 21.00	1.7 - 2.1	2.48 - 3.15
350	19.25 - 24.50	1.9 - 2.5	2.89 - 3.68

PROCÉDURE NORMALISÉE DE FONCTIONNEMENT (PNF)			
TITRE : PRÉLÈVEMENTS SANGUINS		NO PNF : 800-STA-06	
DATE D'ENTRÉE EN VIGUEUR : 2004-10-01	RÉVISION : 7	DATE : 2023-12-18	PAGE : 11 DE 11

### 7.3 Tableau récapitulatif des différentes voies de prélèvements autorisés selon l'espèce

Site de prélèvement	Anesthésie générale	Prélèvements répétés	Volume obtenu	Espèce
Veine caudale	non	oui	++	souris, rats
Veine jugulaire	non	oui	+++	rats
Veine cave, Aorte abdominale	oui	non	+++	souris, rats et cobayes
Veine mandibulaire	non	oui	+++	souris
Veine saphène	non	oui	++	souris, rats et cobayes
Intra cardiaque	oui	non	+++	souris, rats et cobayes

### 3.0 RÉFÉRENCES

CCPA : Lignes directrices : Les rats (2020)

CCPA : Lignes directrices : Les souris (2019)

CCPA, Manuel sur le soin et l'utilisation des animaux d'expérimentation, vol.1 (1993), 109.

Diehl, K-H et al., A Good Practice Guide to the administration of Substances and Removal of blood, Including Routes and Volumes, J. of Applied Toxicology, 21, 15-23.

Fox, J.G. et al, Laboratory animal medicine, 2e edition, ACLAM, Academic Press (2002), 1008-1010.

Hillyer, E. et al, Ferrets, Rabbits, and Rodents: Clinical medicine and surgery, W.B. Saunders Company, (1997), 300-302.

Removal of blood from laboratory mammals and birds, First Report of the BVA/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working Group on Refinement. Laboratory Animals (1993) 27, 1-22.

A Good Practice Guide to Administration of Substances and Removal of Blood, Including Routes and Volumes, Journal of Applied Toxicology (2001), 15-23.

Methods of blood collection in the Mouse, Lab Animal, vol. 29, #10 (2000), 47-53.

NC3Rs website: Blood sampling: <https://nc3rs.org.uk/3rs-resources/blood-sampling>

### 4.0 FORMULAIRE

N/A