

Prélèvement sanguin chez les rongeurs

Procédure normalisée de fonctionnement 208 (PNF-208)

Date d'entrée en vigueur : 27 novembre 2013	Révision : 31 janvier 2018 23 mars 2023	CBSA-13-94-08 CBSA-18-119-08.1 CBSA-23-150-09.5
--	---	---

Documents

- Dossier de l'animal : feuille de suivi et de traitement
- Procédure d'utilisation sécuritaire des objets piquants tranchants – UQTR
- PNF appropriées :
 - PNF-013 Formation des utilisateurs de rongeurs en recherche
 - PNF-206 Contention de base et transport des rongeurs
 - PNF-207 Injections chez les rongeurs
 - PNF-211 Anesthésie des rongeurs
 - PNF-212 Euthanasie des rongeurs
- Annexes :
 - Techniques de prélèvement sanguin chez les rongeurs (**Annexe I**)
 - Période de récupération requise en fonction du volume sanguin prélevé (mL) (**Annexe II**)
 - Volume de prélèvement (mL) acceptable selon le poids chez la souris et le rat. (**Annexe III**)

Généralités

- La procédure la moins invasive, permettant l'obtention du volume de sang requis, devrait être réalisée tout en considérant l'importance de la manipulation et du stress causé à l'animal.
- Le choix de la technique de prélèvement doit aussi tenir compte de l'espèce animale, de la fréquence des ponctions nécessaire, de la quantité ainsi que de la qualité du sang (voir **ANNEXES I II**)
- L'état général, l'état de chair, l'âge et le poids de l'animal doivent être observés avant le début des manipulations.
- Pour un animal âgé ou souffrant d'embonpoint, réduire de 15 % le calcul du volume sanguin total prélevé.

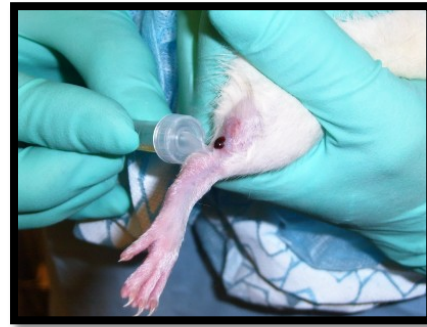
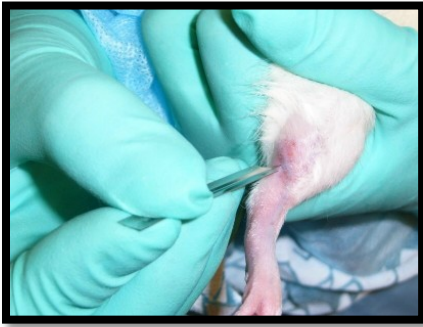
- Un anesthésique local (ex. crème EMLA), approuvé par le vétérinaire, peut être appliqué afin de prévenir la douleur au site du prélèvement.
- Il est primordial de permettre aux tissus le temps de cicatriser avant un second prélèvement.
- Lorsque plusieurs prélèvements doivent être faits en peu de temps sur le même animal, il est préférable d'alterner les ponctions des sites entre le côté droit et gauche de l'animal.
- La fréquence, le nombre et le volume des prélèvements doivent être justifiés au protocole et acceptés par le CBSA.
- Le nombre d'essais infructueux doit se limiter à trois, après quoi, l'aide d'une personne expérimentée doit être demandée.
- Si l'animal bouge, les manipulations doivent être arrêtées et reprises par la suite. Les manipulations doivent être effectuées de façon sécuritaire pour l'animal et pour l'utilisateur.
- S'assurer que les saignements de l'animal soient complètement arrêtés et faire un bilan de santé avant de retourner ce dernier dans son habitat.

Méthodes et Processus

Procédures chez le rat

Veine saphène (petits volumes)

1. Effectuer la contention pour l'injection intramusculaire chez le rat (voir **PNF-207 Injections chez les rongeurs**) ou utiliser l'appareil à contention.
2. Raser le bas de la patte postérieure, face externe.
3. Appliquer une mince couche d'un corps gras sur le site de prélèvement afin de permettre de retenir la goutte de sang.
4. Avec l'aiguille, piquer la veine saphène et récolter le sang voulu. Vous pouvez exercer une légère pression du haut vers le bas de la patte afin d'obtenir davantage de sang.
5. Effectuer une pression au site de ponction avec une ouate sèche.



Veine maxillaire (petits volumes)

1. Effectuer la contention de base chez le rat (voir **PNF-206 Contention de base et transport des rongeurs**).
2. À l'aide d'une aiguille, piquer perpendiculairement la peau au niveau de la rosette du rat.
3. Tourner légèrement l'aiguille afin de percer la peau.
4. Pencher la tête de l'animal vers le bas et récolter le sang.
5. Effectuer une pression au site de prélèvement avec une ouate sèche puis remettre l'animal dans sa cage.

Veine jugulaire (1 personne et sans anesthésie, volumes moyens)

1. Placer l'animal sur le ventre sur une surface plane.
2. Avec la main gauche ou droite, placer l'annulaire et le pouce de chaque côté de l'animal devant les pattes antérieures.
3. Avec ces mêmes doigts, amener les membres antérieurs le long du corps vers l'arrière et les maintenir sur le dos de l'animal.

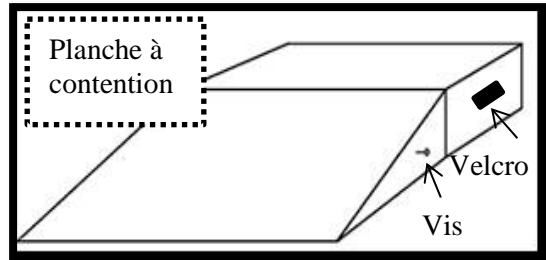


4. Le majeur de la même main vient s'appuyer sur l'épaule et l'index sur le dessus de la tête et ensuite ramener vers les autres doigts, de façon à stabiliser la tête du rat.
5. Le pouce soutient le membre antérieur opposé.
6. Soulever l'animal et réajuster votre prise en appuyant le rat en position verticale (tête en haut) sur l'avant-bras de l'autre bras. L'animal doit être maintenu bien droit.
7. Maintenir de cette façon et visualiser la veine jugulaire (ligne bleutée) de chaque côté du cou. Appliquer une ouate bien imbibée d'alcool afin de bien visualiser la veine. Points de repère; ligne médiane, clavicule, rosette de poil.
8. Insérer l'aiguille (biseau vers le haut) en direction de la tête, à environ 5 mm de la rosette et parallèle au corps du rat. Attention : la veine jugulaire est superficielle donc il ne faut pas trop entrer l'aiguille.
9. Prélever doucement et retirer l'aiguille.
10. À cette étape, une deuxième personne doit transférer le sang dans le tube de récolte approprié à l'analyse voulue.
11. Faire une pression sur le site avec une ouate sèche.

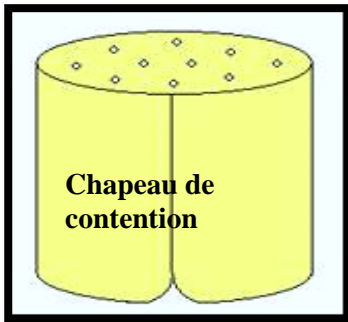


Veine jugulaire (2 personnes et avec anesthésie, volumes moyens)

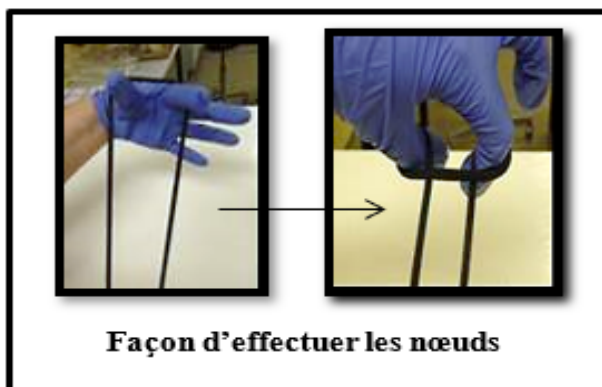
1. Utiliser l'aiguille appropriée avec une seringue de 3 mL.
2. Utiliser la planche à contention requise pour cette technique.
3. Anesthésier le rat en le déposant dans la chambre à induction (voir **PNF-211 Anesthésie des rongeurs**).



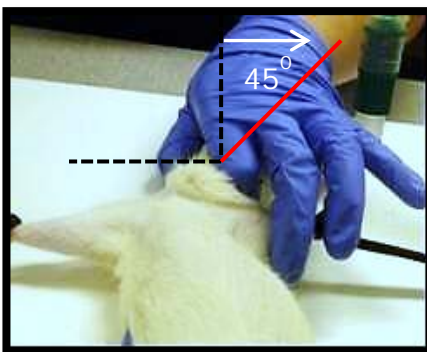
4. Lorsque le rat est anesthésié, le sortir de la chambre à induction en lui plaçant la tête dans le chapeau relié à l'appareil anesthésique.



5. Placer l'animal en position dorsale sur la planche à contention et attacher ses membres antérieurs (bout de la patte) de façon à ce qu'ils soient en extension. Des cordes et des ancrages sont déjà en place sur l'appareil.



6. L'appareil à contention est placé sur une surface plane et stable.
7. Une personne doit se positionner à l'avant de l'animal pendant que la personne qui assiste et surveille l'anesthésie tient les membres postérieurs.
8. La personne qui exécute la ponction va tenir d'une main la tête en plaçant le pouce sur la fente au-dessus du chapeau et les autres doigts en dessous de celui-ci.
9. Avec cette même main, effectuer une rotation de 90° vers le côté où il y aura la ponction.
10. Soulever légèrement la tête et la déplacer de 45° par rapport à sa position initiale. Le majeur et l'annulaire doivent tenir la patte du rat.
11. Maintenir votre contention et visualiser dans le creux de l'épaule le triangle formé par la clavicule, la ligne médiane et le dessus de la patte.
12. Insérer l'aiguille au centre de ce triangle, juste en dessous de la clavicule. Attention : la veine jugulaire est superficielle donc il ne faut pas trop entrer l'aiguille.
13. Prélever doucement et retirer l'aiguille.
14. Faire une pression sur le site avec une ouate sèche.





15. Arrêter l'anesthésie et libérer le rat de l'appareil à contention.

16. Surveiller l'animal jusqu'au réveil.

*****Les techniques suivantes requièrent une anesthésie générale au préalable et elles sont terminales. *****

Intracardiaque (grands volumes)

1. Anesthésier profondément l'animal et vérifier l'absence de réflexe (voir **PNF-211 Anesthésie des rongeurs** et **PNF-212 Euthanasie des rongeurs**).
2. Placer l'animal sur le dos et appliquer de l'alcool 70% au niveau de la cage thoracique.
3. Visualiser les points de repère; la ponction se fait dans l'espace situé entre le sternum et la dernière côte.
4. Mettre l'aiguille sur une seringue de 10-20 mL en exerçant une pression négative sur le piston (lorsque l'aiguille va entrer dans le cœur, le sang va monter).
5. Insérer l'aiguille avec un angle de 30° à 45° par rapport à l'abdomen, et ce, du côté gauche de l'animal (ventricule gauche du cœur).



6. Lorsque le sang commence à entrer dans la seringue, ponctionner lentement afin d'éviter que les parois du cœur collapent.
7. S'assurer que l'animal est décédé en procédant à une seconde méthode d'euthanasie avant d'en disposer.

Aorte abdominale (grands volumes)

1. Anesthésier l'animal et constater l'absence de réflexes (voir **PNF-211 Anesthésie des rongeurs** et **PNF-212 Euthanasie des rongeurs**).
2. Placer l'animal en décubitus dorsal.
3. À l'aide d'une pince et d'un ciseau, ouvrir la cavité abdominale de façon à pouvoir déplacer les intestins vers la gauche de l'animal.
4. Isoler l'aorte abdominale.
5. Préparer une seringue avec une aiguille appropriée puis insérer l'aiguille, le biseau vers le bas, à la base de l'aorte abdominale.
6. Prélever la quantité de sang nécessaire puis procéder à une seconde technique d'euthanasie avant de disposer de la carcasse.

Décapitation (grands volumes)

1. Anesthésier profondément l'animal et vérifier l'absence de réflexe (voir **PNF-211 Anesthésie des rongeurs** et **PNF-212 Euthanasie des rongeurs**).
2. Placer la tête de l'animal dans le carcan de la guillotine et actionner l'instrument.
3. Pencher le corps de l'animal, cou vers le bas, afin de récolter le sang directement dans un récipient.

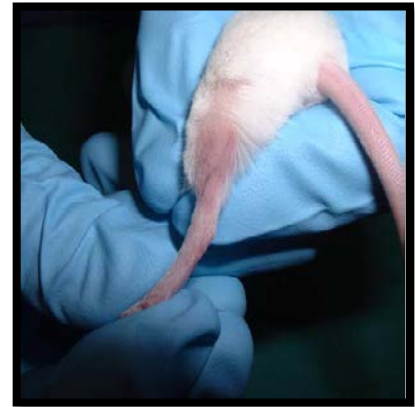


Si la guillotine ne coupe pas franc, veuillez aviser le personnel de l'animalerie.

Procédures chez la souris

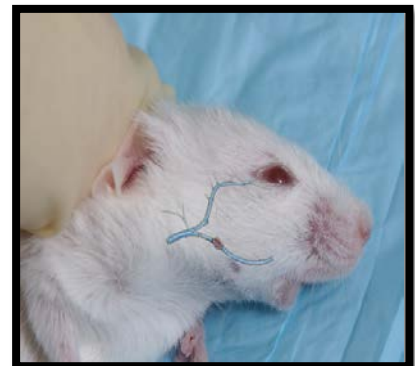
Veine saphène (petits volumes)

1. Effectuer la contention pour l'injection intramusculaire chez la souris (voir **PNF-207 Injections chez les rongeurs**) ou utiliser l'appareil à contention.
2. Raser la partie postérieure de la patte.
1. Appliquer une mince couche d'un corps gras sur le site de prélèvement afin de permettre de retenir la goutte de sang.
2. À l'aide d'une aiguille de grosseur appropriée, piquer la veine saphène et récolter le sang voulu. Afin d'obtenir davantage de sang, effectuer une légère pression du haut vers le bas.
3. Faire une pression afin d'arrêter le saignement puis remettre l'animal dans sa cage.



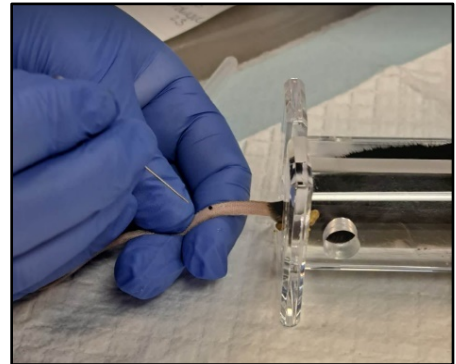
Veine maxillaire (petits volumes)

1. Effectuer la contention de base (voir **PNF-206 Contention de base et transport des rongeurs**). La tête ne doit pas bouger.
2. À l'aide d'une aiguille, piquer perpendiculairement la peau au niveau de la rosette de la souris.
3. Tourner légèrement l'aiguille afin de percer la peau.
4. Pencher la tête de l'animal vers le bas et récolter le sang.
5. Effectuer une pression au site de prélèvement avec une ouate sèche puis remettre l'animal dans sa cage.



Veine caudale (petits volumes)

1. Placer l'animal dans un appareil à contention.
2. Visualiser la veine à gauche ou à droite de la queue de la souris. Il est possible de réchauffer la veine à l'aide d'un tapis chauffant ou d'une compresse d'eau chaude (maximum 40°C) afin de bien visualiser la veine.
3. Tourner légèrement la queue, de façon que la veine choisie soit vers le haut.
4. Tenir la queue avec l'index et le pouce.
5. À l'aide d'une aiguille 23G, piquer superficiellement la veine puis récolter le sang.
6. Effectuer une pression sur le site de prélèvement puis remettre l'animal dans sa cage.
7. Si plusieurs gouttes de sang sont requises, à quelques minutes d'intervalle, il suffit de masser la queue de haut en bas afin d'obtenir une goutte supplémentaire, sans avoir à piquer la queue une seconde fois.



****Les techniques suivantes requièrent une anesthésie générale au préalable et elles sont terminales.****

Ponction intracardiaque (grands volumes)

1. Anesthésier profondément l'animal et constater l'absence de réflexe (voir **PNF-211 Anesthésie des rongeurs et PNF-212 Euthanasie des rongeurs**).
2. Placer l'animal sur le dos et appliquer de l'alcool au niveau de la cage thoracique.
3. Visualiser les points de repère; la ponction se fait à la pointe du sternum.
4. Utiliser une seringue de 1 à 3 mL avec une aiguille appropriée.
5. Retirer le piston à 0,1 mL afin de créer une pression négative.
6. Insérer l'aiguille avec un angle de 15 à 30° par rapport à l'abdomen, et ce, du côté gauche de l'animal.
7. Lorsque le sang commence à entrer dans la seringue, ponctionner lentement afin d'éviter que les parois du cœur collapsent.
8. Effectuer une seconde technique d'euthanasie avant de disposer de la carcasse.



Aorte abdominale (grands volumes)

1. Anesthésier l'animal et constater l'absence de réflexes (voir **PNF-211 Anesthésie des rongeurs et PNF-212 Euthanasie des rongeurs**).
2. Placer l'animal en décubitus dorsal.
3. À l'aide d'une pince et d'un ciseau, ouvrir la cavité abdominale de façon à pouvoir déplacer les intestins vers la gauche de l'animal.
4. Préparer une seringue de 1 ou 3 mL avec une aiguille 25G puis insérer l'aiguille, biseau vers le bas, à la base de l'aorte abdominale.
5. Prélever la quantité de sang nécessaire puis procéder à une seconde technique d'euthanasie avant de disposer de la carcasse.

Décapitation (grands volumes)

1. Anesthésier l'animal et vérifier la profondeur de l'anesthésie (voir **PNF-211 Anesthésie des rongeurs** et **PNF-212 Euthanasie des rongeurs**).
2. Utiliser un ciseau bien affûté, ou une guillotine et sectionner la tête de l'animal.
3. Incliner l'animal, cou vers le bas, afin de récolter le sang puis mettre la carcasse au congélateur prévu à cet effet.

Annexe I : Techniques de prélèvement sanguin chez les rongeurs

TECHNIQUES DE PRÉLÈVEMENT SANGUIN CHEZ LES RONGEURS								
ESPÈCE	SPÉCIFICATIONS	SANS ANESTHÉSIE				TERMINALE		
		Veine saphène	Veine maxillaire	Veine jugulaire	Veine caudale	Intracardiaque	Aorte abdominale	Décapitation
SOURIS	Calibre aiguille	25G	20G	N/A	23G	23G	23G	N/A
	Volume prélevé	25-100 uL	25-100 uL	100-250 uL	25-100 uL	0,5 à 1 cc		
RAT	Calibre aiguille	23G	20G	23G - 25G	23G	19G - 21G	23G – 25G	N/A
	Volume prélevé	100-400 uL	100-400 uL	100 uL-1 cc	50-200 uL	5 à 15 cc		

Annexe II : Période de récupération requise en fonction du volume sanguin prélevé (mL)

PÉRIODE DE RÉCUPÉRATION REQUISE EN FONCTION DU VOLUME SANGUIN PRÉLEVÉ (mL)		
Espèce	Volume circulatoire prélevé (%)	Période de récupération requise
Souris	7,5	1 semaine
	10	2 semaines
	15	4 semaines
Rat	7,5	1 semaine
	10	2 semaines
	15	4 semaines

Annexe III : Volume de prélèvement (mL) acceptable selon le poids chez la souris et le rat.

VOLUME DE PRÉLÈVEMENT (mL) ACCEPTABLE CHEZ LA SOURIS SELON SON POIDS (g)				
POIDS (g)	VOLUME SANGUIN CIRCULANT TOTAL (mL)	7,5 %	10 %	15 %
10	0,60	0,05	0,06	0,09
15	0,90	0,07	0,09	0,14
20	1,20	0,09	0,12	0,18
25	1,50	0,11	0,15	0,23
30	1,80	0,14	0,18	0,27
35	2,10	0,16	0,21	0,32
40	2,40	0,18	0,24	0,36

Calcul de la quantité acceptable de sang à prélever chez la souris (mL)

(Poids de la souris (g) X 0.06 = Volume sanguin circulatoire total) X (%) de sang prélevé

VOLUME DE PRÉLÈVEMENT (mL) ACCEPTABLE CHEZ LE RAT SELON SON POIDS (g)				
POIDS (g)	VOLUME SANGUIN CIRCULANT TOTAL	7,5 %	10 %	15 %
150	9,6 mL	0,72	0,96	1,44
200	12,8 mL	0,96	1,28	1,92
250	16,0 mL	1,20	1,60	2,40
300	19,2 mL	1,44	1,92	2,88
350	22,4 mL	1,68	2,24	3,36
400	25,6 mL	1,92	2,56	3,84
450	28,8 mL	2,16	2,88	4,32
500	32,0 mL	2,40	3,20	4,80

Calcul de la quantité acceptable de sang à prélever chez le rat (mL)

(Poids du rat (g) X 0.06 = Volume sanguin circulatoire total) X (%) de sang prélevé

Références

- Hoff, J. Methods of blood collection in the mouse, *Lab Animal*, 29 (10):47-53.
- Conseil canadien de protection des animaux, CCPA, [Manuel sur le soin et l'utilisation des animaux d'expérimentation, vol.1 \(2^e édition\), 1993](#), site consulté en mars 2023
- Conseil canadien de protection des animaux, [Lignes directrices du CCPA : les souris](#), site consulté en février 2023
- [Conseil canadien de protection des animaux, Lignes directrices du CCPA : les rats](#), site consulté en février 2023
- National center for the replacement, refinement and reduction of animals in research, [Blood sampling: Mouse](#), site consulté en février 2023

Révisée par :

Adjointe au doyen, responsable de l'animalerie :
Mme Fanny Longpré
Technicienne en santé animale :
Mme Christel Perron
Vétérinaire :
Dre Dorine Gilbert

Historique des mises à jour :

Version 3	Ajout de la technique de prélèvement par l'aorte abdominale chez le rat Ajout de la technique de prélèvement par l'aorte abdominale chez la souris Ajout de la technique de prélèvement dans la veine caudale chez la souris Ajout des annexes I , II et III Ajout et modification des photos existantes Ajout de références pertinentes