

Procédure Normalisée de Fonctionnement

TITRE : PRÉLÈVEMENT D'ADN POUR GÉNOTYPAGE	NUMÉRO : A-23
DESTINATAIRES : Personnel du Service des animaleries et usagers	VERSION 1 : 02.08.2016
ÉMISE PAR : Manon St-Germain, vétérinaire CORRIGÉE :	CIPA :
APPROUVÉE PAR : Manon St-Germain, directrice et vétérinaire	DATE : 0?.08.2016
BUT : Décrire les procédures acceptables de prélèvement d'ADN pour le génotypage.	

MATÉRIEL :

- Éthanol 70%
- Kwik-Stop
- Ciseau
- Lame de bistouri #
- Tubes Eppendorf

SANTÉ ET SÉCURITÉ : Le port des ÉPI de travail dédié aux animaleries.

NOTES :

- Privilégier la technique de prélèvement la moins invasive telle que fèces, écouvillon buccal, pelage
- Privilégier la technique de génotypage qui n'affecte pas d'une façon permanente l'animal
- Prélever le moins de tissus possible pour le génotypage
- Privilégier la technique de génotypage et d'identification simultanée
- Utiliser des instruments **tranchants affilés** (ciseaux, lames, etc.) pour effectuer le génotypage
- Désinfecter ou stériliser la lame, ciseau, punch ou tout autre instrument entre chaque prélèvement
- **Un prélèvement < 21 jours doit être justifié auprès du CIPA**

PROCÉDURES SELON LE SITE DE PRÉLÈVEMENT :

A. Pina de l'oreille (21-28 jours d'âge)

Un poinçon d'oreille prélève simultanément un bout de tissu circulaire pour le PCR et identifie l'animal. Voir la charte ci-jointe pour exemple d'identification. Cette procédure ne devrait pas entraîner de saignement lorsque effectuée adéquatement. **Une anesthésie générale à l'Isoflurane® doit être faite pour tous les sujets dont le l'échantillon est prélevée >28 jours d'âge.**

1. Contentionner la souris par la peau du dos.
2. Appliquer une crème à base de xylocaïne 2,5% (Gel EMLA CDMV) ou du Dermacool® vaporisateur avec Lidocaïne 1,5% (CDMV).

3. Placer le poinçon au niveau de la pua de l'oreille.
4. Appliquer de la pression sur le poinçon affilé.
5. Prendre soin de ne pas perdre le petit bout de tissu de 2 mm et le déposer dans l'éppendorf et le fermer.
6. Si un saignement se produit, appliquer une pression avec une gaze et s'assurer de l'arrêt du saignement avant de remettre la souris dans sa cage.
7. Désinfecter l'instrument employé avec de l'éthanol 70% avant de procéder à nouveau chez un autre animal.

B. Prélèvement d'un bout de queue (21-28 jours)

La queue d'une souris contient des os, du cartilage, des vaisseaux sanguins et des nerfs. La coupe de la queue après 28 jours d'âge occasionne un inconfort prolongé en raison de la minéralisation des os de la queue ainsi que le développement de la vascularisation qui est présent à cet âge. Dans l'éventualité où un 2^e échantillon de tissu est nécessaire, un maximum cumulatif (1^{er} + 2^e prélèvement) de 5 mm total de queue peut être coupé. **Une anesthésie générale à l'Isoflurane® doit être faite pour tous les sujets dont l'extrémité de la queue est prélevée >28 jours d'âge.**

1. Contentionner la souris par la peau du dos.
2. Appliquer une crème à base de xylocaïne 2,5% (Gel EMLA CDMV) ou du Dermacool® vaporisateur avec Lidocaïne 1,5% (CDMV)
3. Attendre le temps recommandé par le fabricant.
4. Couper 2 mm de la queue avec une paire de ciseaux affilée. Une lame de bistouri peut aussi être employée.
5. Déposer le tissu dans un contenant Eppendorf et le fermer.
6. Dans le cas de saignement, appliquer une pression avec une gaze sur l'extrémité de la queue. Si elle perdure, appliquer agent hémostatique sur un coton tige tel que Kwik Stop®. Ne pas employer le bâton avec nitrate d'argent parce qu'il y a un risque d'ingestion par la souris et c'est toxique pour elle. Contrôler le saignement avant de remettre l'animal dans sa cage.
7. Désinfecter l'instrument tranchant employé avec de l'éthanol 70% avant de procéder à nouveau chez un autre animal.

C. Prélèvement d'un bout de queue ou d'oreille (<7 jours d'âge)

L'extrémité de la queue à cet âge ne contient pas de vertèbres osseuses d'où le prélèvement d'un maximum de 2mm. Cette dimension en forme de triangle peut aussi être coupée au niveau de l'extrémité de l'oreille avec un ciseau tranchant.

Exemple de charte d'identification avec la méthode du poinçon d'oreille

