

Procédure Normalisée de Fonctionnement

TITRE : PRÉLÈVEMENT DE TISSUS POUR GÉNOTYPAGE	NUMÉRO : A-23
DESTINATAIRES : Personnel du Service des animaleries et usagers	VERSION 1 : 02.08.2016 VERSION 2 : 04.12.2019
ÉMISE PAR : Manon St-Germain, vétérinaire CORRIGÉE : Manon St-Germain, vétérinaire	CIPA : 20.01.2020
APPROUVÉE PAR : Manon St-Germain, directrice et vétérinaire	DATE : 02.08.2016
BUT : Décrire les procédures acceptables de prélèvement de tissus pour le génotypage.	

MATÉRIEL :

- Éthanol 70%
- Kwik-Stop
- Ciseau
- Lame de bistouri
- Tubes Eppendorf®
- Poinçon d'oreille

SANTÉ ET SÉCURITÉ :

- Le port des ÉPI de travail dédié aux animaleries
- L'effet foeto-toxique de l'isoflurane® n'a pas été prouvé. Les femmes enceintes devraient consulter leur médecin avant de travailler avec cet anesthésique.
- Se référer aux F.D.S. disponibles dans le SB-M415 pour connaître les risques reliés à la manipulation de l'isoflurane® et les autres produits.

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, poinçon 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, si tel est le cas se référer à la section *Échantillons prélevée sous anesthésie générale à l'Isoflurane® (>28 jours d'âge)* de cette P.N.F.**

1. Identifier à l'aide d'un marqueur permanent, le numéro des animaux à génotyper sur les tubes Eppendorf®.
2. Contentionner la souris par la peau du dos.
3. Appliquer une crème à base de xylocaïne 2,5% (Gel EMLA CDMV) ou du Dermacool® en vaporisateur avec Lidocaïne 1,5% (CDMV) au niveau du site de prélèvement.
4. Respecter le temps d'attente recommandé par le fabricant avant d'effectuer le prélèvement.
5. Placer le poinçon au niveau de la pua de l'oreille.
6. Appliquer de la pression sur le poinçon, le pouce devrait être placé au-dessus de la partie tranchante de manière à ce qu'une pression maximale soit exercée ce qui favorisera le détachement du tissu.
7. Prendre soin de ne pas perdre le petit bout de tissu de 2 mm et le déposer dans l'Eppendorf® correspondant au bon numéro et le fermer.
8. 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.
9. Noter sur la carte de cage et ou au sein d'un registre le numéro de l'animal et la ou les emplacement(s) du ou des prélèvement(s) fait au niveau de l'oreille.
10. 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, si tel est le cas se référer à la section *Échantillons prélevée sous anesthésie générale à l'Isoflurane® (>28 jours d'âge)* de cette P.N.F.**

Note : Une autre méthode devra être employée pour permettre l'identification des animaux.

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® en vaporisateur avec Lidocaïne 1,5% (CDMV) au niveau du site de prélèvement.

3. Respecter le temps d'attente recommandé par le fabricant avant d'effectuer le prélèvement.
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.

Échantillons prélevée sous anesthésie générale à l'isoflurane® (>28 jours d'âge)

Note : Il est primordial que les animaux ne soient pas entassés à l'intérieur de la chambre à induction. Tous les animaux devraient reposer sur leurs quatre pattes et pouvoir se retourner sur eux-mêmes. Le nombre maximal d'animaux variera selon la grosseur de la chambre d'induction choisie

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® en vaporisateur avec Lidocaïne 1,5% (CDMV) au niveau du site de prélèvement.
3. Respecter le temps d'attente recommandé par le fabricant avant d'effectuer le prélèvement.
4. Brancher le tube d'alimentation des gaz frais de l'appareil à anesthésie à la chambre d'induction.
5. Ouvrir la bonbonne d'O₂.
6. Ajuster le débitmètre d'O₂ de l'appareil à anesthésie à 1 litre/minute pour une petite boîte à induction ou à 5 litre/minute pour une grosse boîte à induction.
7. Déposer les animaux dans la chambre.
8. Ajuster le vaporisateur d'isoflurane à 2-3%.

9. Attendre que les animaux soient anesthésiés, absence de mouvement, respiration plus lente et profonde.
10. Sortir les animaux un à la fois de la chambre d'induction et procéder immédiatement au prélèvement de tissus selon la technique de prélèvement d'ADN choisie en suivant les étapes décrites dans cette P.N.F.
11. Remettre l'animal dans sa cage une fois le prélèvement effectué et le surveiller jusqu'à son réveil complet.
12. Fermer le débitmètre d'oxygène, la bonbonne d'O₂ et le vaporisateur d'Isoflurane à la fin des procédures.
13. Faire le vide d'air dans l'appareil à anesthésie en appuyant sur le bouton « Flush O₂ ».
14. S'assurer que les animaux sont tous bien réveillés avant de les retourner dans la pièce d'hébergement.

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

