

PNF M-02
Génotypage

En vigueur le	16 mai 2017	Version	2.0
Approbations :	16 mai 2017	Révision le	16 mai 2017

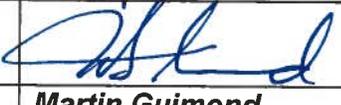
<i>Chef de service des opérations</i>	 Nathalie Tessier	16/05/2017 Date
<i>Vétérinaire</i>	 André-François Couture	29.05.2017 Date
<i>Président du Comité de Protection des Animaux</i>	 Martin Guimond	16/05/2017 Date

TABLE DES MATIÈRES

1	BUT / OBJECTIF	2
2	APPLICABLE À / RESPONSABILITÉS	2
3	INFORMATIONS	2
4	DÉFINITIONS	2
5	EXEMPLAIRES / FORMULAIRES / ATTACHEMENTS	2
6	MATÉRIEL / ÉQUIPEMENT	2
7	ÉTAPES / PROCÉDURES	3
8	RÉFÉRENCES / PROCÉDURES CONNEXES	4

1 BUT / OBJECTIF

Le but de cette Procédure Normalisée de Fonctionnement (PNF) est d'énumérer et de décrire les différentes procédures pour le prélèvement de tissus pour le génotypage des rongeurs.

2 APPLICABLE À / RESPONSABILITÉS

Cette PNF est la responsabilité de tout le personnel qualifié de l'animalerie et des usagers qui procèdent au prélèvement de tissus pour le génotypage de rongeurs. Le personnel ayant à prélever des tissus pour le génotypage de rongeurs doit lire, comprendre et appliquer cette PNF. Les membres du Comité de Protection des Animaux doivent approuver et réviser cette PNF au moins aux 3 ans. Le chef de service de l'animalerie doit s'assurer que le personnel et les usagers appliquent cette PNF correctement.

3 INFORMATIONS

La technique de génotypage nécessite le prélèvement de tissu animal sur de jeunes animaux. Le chercheur est responsable de déterminer la méthode de prélèvement de tissus pour le génotypage. Il est recommandé d'adapter les techniques de génotypages afin de pouvoir utiliser une méthode de prélèvement de tissus autre que la biopsie de queue. Parmi les méthodes alternatives, moins invasives, il est possible de considérer le prélèvement de poils (coupé ou prélevés de façon à conserver le follicule pileux), la salive (prélevé avec écouvillon de la bouche), le poinçonnage d'oreille et la prise de sang. Seront décrites ici, le poinçonnage d'oreille, la prise de sang et la biopsie de queue.

4 DÉFINITIONS

ACRHMR : animalerie du Centre de recherche de l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont

Usager : membre d'une équipe de recherche utilisant les services de l'animalerie

CPA : comité de la protection des animaux

5 EXEMPLAIRES / FORMULAIRES / ATTACHEMENTS

Sans objet

6 MATÉRIEL / ÉQUIPEMENT

- Ciseaux iris et pinces à préhension
- Poinçon d'oreille
- Cautère à chaleur
- Tube d'échantillonnage
- Aiguille (20 à 23G 1 pouce)
- Solution désinfectante d'alcool 70%
- Anesthésique (isoflurane®)
- Analgésique topique (crème Emla) et injectable.(Anafen)
- Compresse

7 ÉTAPES / PROCÉDURES

7.1 Poinçonnage d'oreille.

- Désinfecter avec de l'alcool 70% le poinçon et la pince à préhension.
- À l'aide du poinçon d'oreille faire une demi-lune au niveau de l'extrémité de l'oreille externe.
- L'animal est bien contentionné pour la procédure.
- Faire le ou les trous selon la charte d'identification.
- Récolter le bout de tissu excisé comme échantillon pour le génotypage à l'aide d'une pince à préhension
- Ne pas procéder au poinçonnage d'oreille du rongeur avant 2 semaines d'âge. Voir PNF P-08 identification animal.
- Dans le but d'éviter la contamination croisée du poinçon d'oreille par l'ADN, il est recommandé d'utiliser 2 poinçons et deux pinces en alternance. Après utilisation, les instruments sont plongés dans un récipient contenant de l'alcool 70%. Avant d'utiliser les instruments, ils sont nettoyés à l'alcool 70% puis épongés avec une compresse propre.

7.2 Prise de sang (ponction sous mandibulaire).

- Avant de faire la prise de sang, vérifier l'état général de l'animal.
- Si l'animal présente un des signes suivant : faible, déshydraté, anémique, ne pas faire la prise de sang et consulter le vétérinaire.
- Si l'état général est satisfaisant, faire la ponction avec l'aiguille 20 à 23G 1 pouce.
- Récolter le sang dans le tube d'échantillonnage selon la procédure établie par le laboratoire. Le volume requis est égale à 2 grosses gouttes de sang. Voir PNF M-05 prélèvement sanguin.

7.3 Biopsie de queue.

- La biopsie de queue devrait se faire idéalement entre 14 et 21 jours d'âge.
- Le génotypage avec la biopsie de queue peut être effectuée seulement 2 fois dans la vie de l'animal et ne doit pas excéder 5mm au total.
- À chaque fois, on coupe au maximum 2-3 mm du bout de la queue. Plus les échantillons sont grands, plus l'on risque que le matériel conjonctif (cartilage, tendons) et osseux, interfère avec les résultats du PCR.
- L'utilisation d'un ciseau bien tranchant est primordiale.

7.3.1 Procédure pour les souris de moins de 28 jours d'âge.

- L'anesthésie général n'est pas obligatoire si moins de 28 jours d'âge.
- Nettoyer le ciseau avec de l'alcool 70% et assécher avec une compresse propre.
- Bien contentionner l'animal manuellement ou à l'aide d'un tube à contention.
- Identifier l'animal à l'aide d'un poinçonnage d'oreille.
- Couper la queue avec le ciseau.
- Il faut nettoyer le ciseau après chaque coupe de queue.
- Mettre l'échantillon de tissu dans le tube d'échantillonnage.
- Regarder s'il y a présence de sang et si oui faire une légère pression ou cautériser.
- Retourner l'animal en cage.
- Vérifier que le saignement est bien arrêté.

- Dans le but d'éviter la contamination croisée du ciseau par l'ADN, il est recommandé d'utiliser 2 ciseaux et deux pinces en alternance. Après utilisation, les instruments sont plongés dans un récipient contenant de l'alcool 70%. Avant d'utiliser les instruments, ils sont nettoyés à l'alcool 70% puis épongés avec une compresse propre.

7.3.2 Procédure pour souris de plus de 28 jours.

- La procédure est effectuée comme décrite au point 7.3.1 sous anesthésie générale. Une brève anesthésie générale à l'isoflurane est faite à l'aide d'un petit masque à induction. Voir PNF M-07 Anesthésie.
- Faire les mêmes étapes que pour les souris de moins de 23 jours.

8 RÉFÉRENCES / PROCÉDURES CONNEXES

M-05 Prélèvement sanguin

P-08 Habillement et circulation à l'intérieur de l'animalerie