



PNF M-02

Technique de génotypage des souris

Révisée par : Julie Dubeau et Marie-Ève Lebel

Date : 21 janvier 2025

Version : 4.0

Approuvé par le Comité de Protection des Animaux du CRHMR

1. BUT / OBJECTIF

Le but de cette Procédure Normalisée de Fonctionnement (PNF) est de décrire les différentes techniques de prélèvements de tissus afin de procéder au génotypage des rongeurs à l'Animalerie du Centre de Recherche de l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont (ACRHMR).

2. APPLICABLE À / RESPONSABILITÉS

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

3. INFORMATIONS

L'utilisation d'animaux modifiés génétiquement est très utiles pour mieux comprendre les mécanismes biologiques, modéliser des maladies humaines, ou encore pour tester de nouveaux traitements ou médicaments. Le recours à ces modèles nécessite de valider ou de déterminer le génotype (l'information génétique) des animaux produits ou acquis. Pour ce faire, différentes techniques de génotypage et de phénotypage existent afin de déterminer l'existence ou non de modifications génétiques à des endroits précis du génome.

Selon le Conseil Canadien de Protection des Animaux (CCPA), le choix de la méthode de génotypage devrait être fondé sur les critères suivants : 1) la réduction au minimum de la douleur et la détresse chez l'animal; 2) la quantité de tissu nécessaire en fonction du type d'analyse requise; 3) la possibilité d'utiliser le même échantillon de tissu que celui prélevé pour l'identification de l'animal.



Les techniques les plus couramment utilisées sont la réaction en chaîne de la polymérase (PCR), la cytométrie en flux et l'analyse par transfert de Southern. Ces méthodes requièrent l'obtention de tissus tels que des biopsies auriculaires ou caudale ou encore des échantillons de sang, de fèces, de cellules buccales ou de follicules pileux.

Les deux principaux prélèvements utilisés à l'ACRHMR sont la biopsie auriculaire et l'échantillons de sang. La biopsie caudale est permise uniquement si aucune autre méthode de prélèvement ne peut être effectuée, due aux contraintes de l'étude. Il s'agit d'une technique plus invasive que la biopsie auriculaire, car elle est prélevée dans un tissu osseux et l'ADN collecté est de moins bonne qualité. De plus, cette technique doit être jumelée avec une autre permettant l'identification de l'animal, ce qui augmente le stress de celui-ci.

4. DÉFINITIONS

ACRHMR : Animalerie du Centre de Recherche de l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont

CCPA : Conseil Canadien de Protection des Animaux

CPA : Comité de Protection des Animaux

PNF : Procédure Normalisée de Fonctionnement

Utilisateur : Membre d'une équipe de recherche utilisant les services de l'animalerie

5. EXEMPLAIRES / FORMULAIRES / ATTACHEMENTS

Sans objet.

6. MATÉRIEL / ÉQUIPEMENT

- Ciseaux iris
- Pince Adson (mousse de préférence)
- Poinçon d'oreille
- Crayon cautère
- Tubes Eppendorf
- Tubes avec anti-coagulant
- Support à tubes
- Aiguille (20 à 23G 1 pouce)
- Alcool 70%
- Contenant à objets tranchants
- Contenants pour déchets biomédicaux
- Anesthésique (Isoflurane®)
- Compresses



7. ÉTAPES / PROCÉDURES

7.1 Biopsie auriculaire

La biopsie auriculaire est une technique peu invasive qui peut être faite à n'importe quel âge à **partir de 2 semaines d'âge**. Elle a l'avantage de permettre, en une seule manipulation, d'identifier l'animal en plus d'effectuer le prélèvement, ce qui réduit considérablement le stress. Il faut toutefois s'assurer du bon état du poinçon d'oreille avant le prélèvement. Tout poinçon endommagé ou émoussé doit être jeté, car il peut causer des blessures à l'animal.

- Identifier les tubes de prélèvement selon les instructions du laboratoire à l'aide d'un crayon permanent (ID de l'animal, lignée, etc.) puis les installer dans le support à tubes Eppendorf.
- S'assurer de connaître la charte d'identification du chercheur si celle-ci est personnalisée. La garder à portée de main au besoin. S'il n'y a pas de charte personnalisée, utiliser la charte standard de l'ACRHMR. Se référer à la PNF P-06 : Identification animale.
- Préparer le matériel en désinfectant avec de l'alcool 70% le poinçon et la pince à préhension.
- Placer une compresse propre qui servira pour recevoir le poinçon une fois le prélèvement effectué. S'assurer qu'elle ne soit pas dans un endroit susceptible de recevoir de l'urine ou des fèces des rongeurs (donc l'éloigner de la cage).
- Préparer des compresses imbibées d'alcool afin de désinfecter rapidement les instruments entre chaque animal.
- Vérifier l'état général de l'animal. Si l'animal présente un des signes suivants : faiblesse, déshydratation, maigreur, anémie, ne pas faire le prélèvement et consulter le laboratoire et/ou procéder à l'euthanasie de l'animal.
- Appliquer une bonne contention sur l'animal. La tête ne doit pas bouger et l'oreille doit être facilement accessible.
- À l'aide du poinçon d'oreille faire une demi-lune bien visible sur le contour de l'oreille.
- Déposer délicatement le poinçon sur une compresse propre afin de ne pas perdre le tissu.
- Récolter dans un tube le bout de tissu excisé comme échantillon pour le génotypage à l'aide d'une pince à préhension.
- Désinfecter les instruments entre chaque prélèvement. Imbiber à nouveaux les compresse d'alcool au besoin.
- Incrire sur le carton de cage les identifications des animaux.
- Conserver les tissus selon l'entente avec l'équipe de recherche.

7.2 Biopsie caudale (prélèvement au niveau de la queue)

La biopsie caudale doit être effectuée avant l'âge de quatre semaines, idéalement entre 14 et 17 jours, car l'ossification des vertèbres de la queue commence vers l'âge de deux à trois semaines. Dans le cas où la souris aurait plus de quatre semaines, la procédure doit se faire sous anesthésie générale à l'isoflurane. Il est interdit d'effectuer un second



prélèvement de tissu caudale. Si cela est nécessaire, une demande contenant une solide justification doit être soumise auprès du CPA.

- Identifier les tubes de prélèvement selon les instructions du laboratoire à l'aide d'un crayon permanent (ID de l'animal, lignée, etc.) puis les installer dans le support à tubes Eppendorf.
- Préparer le matériel en désinfectant avec de l'alcool 70% le ciseau iris (s'assurer que celui-ci est bien tranchant), le poinçon, le cautère et la pince à préhension. Mettre de côté les instruments afin d'éviter qu'ils puissent être en contact avec l'urine ou les fèces.
- Préparer des compresses imbibées d'alcool afin de désinfecter rapidement les instruments entre chaque animal.
- Vérifier l'état général de l'animal. Si l'animal présente un des signes suivants : faiblesse, déshydratation, maigreur, anémie, ne pas faire le prélèvement et consulter le laboratoire et/ou procéder à l'euthanasie de l'animal.
- Appliquer une bonne contention sur l'animal.
- À l'aide du ciseau, couper une petite section du bout de la queue de la souris (1-3 mm selon les besoins de l'équipe de recherche, la taille du prélèvement tissulaire doit être le plus petit possible).
- Mettre le bout de tissu dans un tube Eppendorf.
- À l'aide du poinçon d'oreille identifier l'animal selon la charte d'identification utilisée par le laboratoire.
- Regarder s'il y a présence de sang au niveau de la queue. Si oui, faire une légère pression et/ou cautériser jusqu'à ce que le saignement ait cessé.
- Désinfecter les instruments entre chaque prélèvement. Imbiber à nouveaux les compresse d'alcool au besoin.
- Inscrire sur le carton de cage les identifications des animaux.
- Conserver les tissus selon l'entente avec l'équipe de recherche.

7.3 Échantillon de sang

Consulter la PNF M-05: prélèvements sanguins afin de connaître les techniques, sites de prélèvement et le volume maximal permis. Les prélèvements sanguins ne peuvent pas être effectués avant deux semaines d'âge.

- Identifier les tubes de prélèvement selon les instructions du laboratoire à l'aide d'un crayon permanent (ID de l'animal, lignée, etc.) puis les installer dans le support à tubes Eppendorf. Selon les besoins, les tubes peuvent avoir un produit anti-coagulant (fourni par le laboratoire) à l'intérieur.
- Préparer l'enceinte biologique en y plaçant au fond, la boîte d'objets coupants, des aiguilles 20G préalablement décapsulés dans un support à tubes, un paquet de compresses propres ainsi qu'un sac biohazard pour disposer des compresses souillées.
- Avant de faire la prise de sang, vérifier l'état général de l'animal. Si l'animal présente un des signes suivants : faiblesse, déshydratation, maigreur, anémie, ne pas faire la prise de sang et consulter le laboratoire et/ou procéder à l'euthanasie de l'animal.
- Si l'état général est satisfaisant, identifier l'animal selon la charte d'identification utilisée par le laboratoire à l'aide du poinçon d'oreille, puis effectuer la prise de sang selon la



PNF M-05. Normalement, le volume requis pour le phénotypage est d'une à deux gouttes de sang.

- Disposer de l'aiguille dans le contenant d'objet tranchant et effectuer une compression au niveau du site de prélèvement afin d'arrêter le saignement.
- Une fois le saignement terminé, jeter la compresse souillée de sang dans un sac biohazard.
- Inscrire sur le carton de cage les identifications des animaux et s'assurer que toutes les souris sont actives.
- Conserver le sang selon l'entente avec l'équipe de recherche.

8. RÉFÉRENCES / PROCÉDURES CONNEXES

PNF M-05 Prélèvement sanguin

PNF M-07 Anesthésie des rongeurs

PNF P-06 Identification animale

PNF P-10 procédures pour travail sous une hotte biologique

Ligne directrice du CCPA : les souris 2022

9. HISTORIQUE DES MODIFICATIONS

Date	Modifications	Version
2017-05-16	Mise à jour	2.0
2022-08-23	Transfert sur le nouveau gabarit et ajustement en lien avec les lignes directrices du CCPA 1019	3.0
2025-01-21	Mise à jour	4.0