| PNF M-05<br>Prélèvement sanguins | | |
|---|---|---|
| **Révisée par :** Marie-Ève Lebel, Julie Dubeau | **Date :** Avril 2025 | **Version :** 6.0 |
| **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 méthodes de prélèvement sanguin chez les animaux de l'Animalerie du Centre de Recherche de l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont (ACRHMR) ainsi que les bonnes pratiques en ce qui a trait aux sites, volumes et fréquences de prélèvement.

## 2. APPLICABLE À / RESPONSABILITÉS

Cette PNF est la responsabilité de tout le personnel qualifié de l'ACRHMR et des utilisateurs qui procèdent aux prélèvements sanguins. Le personnel ayant à prélever du sang des animaux, 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

Les prélèvements sanguins sont des procédures courantes lors des projets de recherches avec les animaux puisqu'ils permettent d'analyser divers paramètres biologiques, d'évaluer l'effets de traitements ou de suivre l'état physiologique des animaux. Cependant, il est important de respecter les procédures en place et de choisir judicieusement la technique utilisée afin de garantir la fiabilité des résultats tout en minimisant le stress et la douleur des animaux.

Le choix de la technique dépendra de nombreux facteurs, notamment :

- Le but de la collecte de sang (analyse biochimique, extraction d'ADN, analyse par cytométrie de flux, etc.).
- Le volume de sang à prélever.
- La fréquence de prélèvement (unique, répété ou procédure terminale).
- L'état de santé de l'animal.
- L'impact potentiel du stress induit par le prélèvement sur les paramètres hémato-biochimiques.

Le choix de l'espèce et du site d'échantillonnage doit être effectué dans le but de réduire autant que possible les effets négatifs sur le bien-être animal. Au besoin, consulter le vétérinaire. De plus, des mesures de raffinement devraient être mises en place pour les techniques qui risquent d'entraîner des effets négatifs sur le bien-être animal. Ces mesures peuvent inclure l'anesthésie, la sédation, l'application d'un anesthésique local, l'installation d'un cathéter pour des ponctions veineuses

répétées, l'injection de fluide isotonique ainsi que l'utilisation du plus petit calibre d'aiguille possible. Par ailleurs, le personnel qui procède au prélèvement sanguin des animaux doit être compétent dans la manipulation de l'espèce animale utilisée et dans l'exécution de la technique. Au besoin, remplir un formulaire **F-37 : Demande de formation** à l'adresse suivante : https://app.smartsheet.com/b/form/f1da741b38af41a1b1c65e9efb6e4c4e

La quantité et la fréquence acceptables des prélèvements sanguins dépendent du volume sanguin en circulation de l'animal et du taux de renouvellement des globules rouges. Le calcul du volume total de sang en circulation se fait en fonction du poids corporel d'un animal en bonne santé et varie selon l'espèce (consulter l'annexe I pour plus de détails). Pour un animal malade, obèse ou âgé, réduire de 15% le calcul du volume total de sang en circulation. Enfin, il n'est pas possible d'effectuer de prélèvements sanguins (à l'exception des prélèvements sanguins terminaux) chez des souris âgées de moins de 14 jours en raison du risque de choc hypovolémique trop important.

## 4. DÉFINITIONS

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

CPA : Comité de Protection des Animaux

TSA : Technicien(ne) en Santé Animale

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

## 5. ANNEXE

Annexe I : Volume sanguin en circulation et volume de prélèvement acceptable, par espèce animale, basés sur le poids corporel et la période de récupération minimale

Annexe II : Récapitulatif des sites de prélèvements sanguins en fonction des espèces

Annexe III : Exemple de tubes de récolte selon les applications

## 6. MATÉRIEL / ÉQUIPEMENT

- Seringue (le format varie selon l'espèce et le site de prélèvement).
- Aiguille (le calibre est différent selon chaque espèce et le site de prélèvement).
- Crème EMLA
- Appareil à anesthésie (isoflurane)
- Compresses
- Tube de contention
- Vaseline ou Optixcare
- Capillaires
- Chlorhexidine 2%
- Alcool isopropylique 70%
- Solution isotonique de Lactate de Ringer ou de saline 0,9%
- Tubes de récolte

## 7. ÉTAPES / PROCÉDURES

### 7.1 Généralités

- Vérifier l'état de l'animal et du site de prélèvement. Ne pas collecter de sang sur un site de prélèvement lésé (ex. hématome, enflure).
- Prélever le sang dans le contenant approprié en fonction de l'utilisation (consulter l'annexe III pour des exemples) et respecter les volumes sanguins maximaux pouvant être prélevés, (en considérant les gouttes de sang non récoltés) (consulter l'annexe I). Le nombre maximal de tentatives pour prélever un échantillon sanguin est de 3 essais infructueux, En cas de difficulté d'exécution, demander de l'aide à une personne qualifiée.
- S'assurer que le saignement soit arrêté avant de retourner l'animal dans sa cage et vérifier son état général avant de quitter la pièce.

### 7.2 Prélèvements chez les rongeurs

#### 7.2.1 Veines saphènes (rat et souris)

- Mettre l'animal dans un tube à contention.
- Maintenir une patte postérieure à l'extérieur du tube en faisant un garrot avec les doigts.
- Retirer le poil la région de la veine saphène à l'aide d'un rasoir, d'une lame ou des doigts.
- Appliquer un corps gras (vaseline, optixcare) sur le site de prélèvement.
- Perforer la veine saphène à l'aide d'une aiguille 25G (souris) ou 23G (rat).
- Récolter les gouttes de sang qui se forment.
- Relâcher le garrot et faire une pression sur la veine avec une compresse jusqu'à l'arrêt des saignements.
- Relâcher l'animal.
- La gale peut être retirée pour effectuer des prélèvements répétés.

Veine saphène

#### 7.2.2 Veine de la queue (rat et souris)

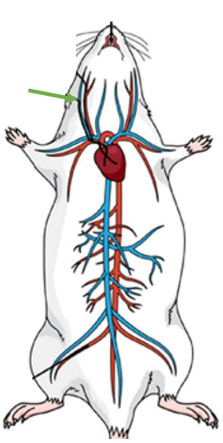
- Au besoin, mettre l'animal dans un tube de contention approprié en laissant sortir sa queue.

- Au besoin (pas nécessaire pour de petits volumes), réchauffer la queue de l'animal à l'aide d'une lampe chauffante, d'une bouillote ou d'un chauffe-main. Dans ce cas, bien surveiller l'animal afin d'éviter l'hyperthermie ou les brûlures.
- Désinfecter le site de prélèvement avec de la chlorhexidine 2% ou de l'alcool 70%.
- Piquer la veine caudale latérale avec une aiguille 25G pour une souris ou 23G pour le rat.
- Récoltez le sang avec un tube de prélèvement préalablement ouvert ou avec un capillaire.
- Comprimer le site de prélèvement à l'aide d'une compresse jusqu'à l'arrêt du saignement.
- Pour reprendre du sang dans un court délais (ex. mesures du glucose), il est possible de retirer la gale (repiquer au besoin).

Veine de la queue

### 7.2.3 Veine jugulaire (rat)

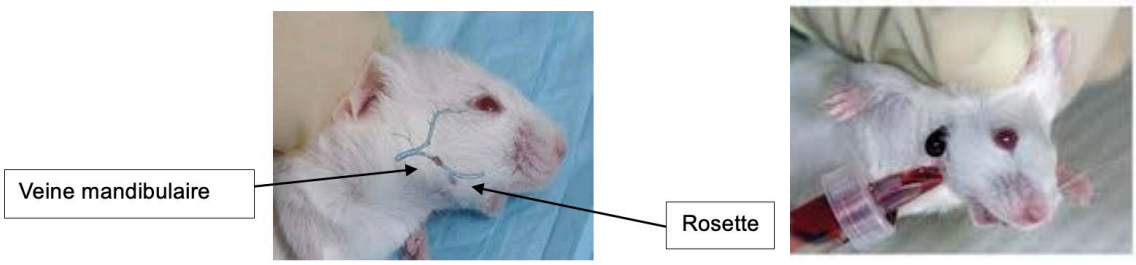
- Prendre le rat avec le pouce et le majeur en ramenant ses membres antérieurs vers l'arrière. Avec l'index, ramener la tête avec l'arrière.
- S'assurer que l'animal respire bien, s'il montre des signes d'inconfort, le relâcher et refaire la contention.
- Au besoin, appliquer un peu d'alcool sur le site de prélèvement ou raser la région afin de mieux visualiser la veine.
- Prendre une seringue munie d'une aiguille 23-25G et piquer la veine en orientant le biseau vers le haut.
- Aspirer lentement.
- Lorsque le prélèvement est terminé, retirer l'aiguille et faire une pression en appuyant sur le site de la jugulaire pour éviter la formation d'un hématome.



**Veine jugulaire**

### 7.2.4 Veine submandibulaire (souris)

- Effectuer une bonne contention de la souris en s'assurant que la tête ne bouge pas et que la bouche soit légèrement ouverte. S'assurer que l'animal respire bien, s'il montre des signes d'inconfort ou la langue et les lèvres bleues, le relâcher et refaire la contention.
- Prendre une aiguille 20-23G.
- Localiser la rosette sur une des joues : La veine submandibulaire se trouve juste au-dessus et légèrement en arrière (voir la photo ci-dessous):




Veine submandibulaire

- Piquer la veine en introduisant perpendiculairement le bout du biseau de l'aiguille.
- Récolter le sang avec un tube de prélèvement préalablement ouvert. Attention la souris peut saigner beaucoup.
- Relâcher l'animal et vérifier que le saignement s'est arrêté. Si ce n'est pas le cas, faire une légère pression à l'aide d'une compresse jusqu'à l'arrêt du saignement.

### 7.2.5 Ponction cardiaque (rat et souris)

- Procéder à l'anesthésie profonde de l'animal (consulter la PNF M-07).
- Vérifier la profondeur de l'anesthésie par l'absence de réflexe de retrait.
- Prendre une seringue munie d'une aiguille de grosseur appropriée (25G 5/8 pour les souris, 20G pour les rats) décoller le piston de la seringue et l'insérer à la pointe du sternum avec un angle de 45 degrés.
- Tirer le piston de la seringue pour aspirer le sang. Il est possible de reculer ou avancer légèrement l'aiguille au besoin, afin qu'elle soit dans le cœur ou de décoller le biseau de la paroi. Une fois que l'aiguille est localisée au bon endroit, rester le plus stable possible.
- Alternativement, il est possible d'ouvrir le thorax, et piquer au niveau du cœur.
- Prélevez le volume de sang voulu puis procéder à l'euthanasie de l'animal (consulter la PNF M-14).

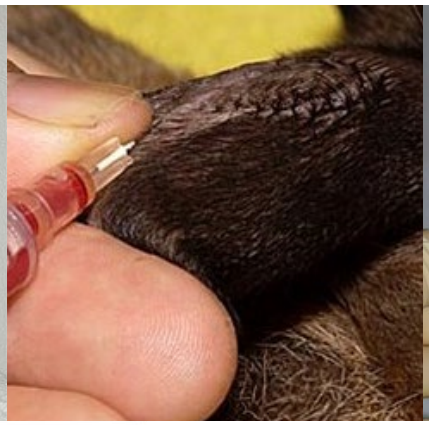
Ponction cardiaque

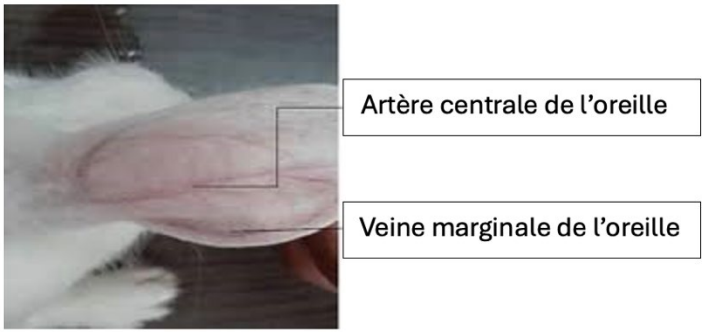
### 7.3 Prélèvement chez les lapins

Les prélèvements sanguins chez le lapin sont exécutés par des Technicien(ne)s en Santé Animale (TSA) et certaines techniques nécessites deux personnes ; une pour effectuer la contention, l'autre pour procéder au prélèvement. Les lapins étant une espèce « proie », le stress engendré peut nuire aux échantillons sanguins. Il peut être recommander d'administrer une sédation au préalable afin de limiter le stress. Consulter la PNF M-16.

#### 7.3.1 Veine marginale de l'oreille

- Emmailloter le lapin dans une serviette (technique du burrito) et appliquer une anesthésie locale (crème EMLA).
- Retirer les poils au niveau du site de prélèvement à l'aide d'un rasoir ou des doigts.
- Nettoyer le site de prélèvement à l'aide d'alcool 70%.
- Effectuer une compression à la base de l'oreille pour engendrer la vasodilatation de la veine.
- Ponctionner la veine à l'aide d'un papillon de 25G.
- Ne pas utiliser de seringue pour limiter le risque de collapsus, récolter le sang directement dans un tube d'échantillon préalablement ouvert.
- Comprimer le site de ponction à l'aide d'une compresse jusqu'à l'arrêt du saignement.






#### 7.3.2 Veine saphène latérale (2 personnes requises)

- Mettre le lapin en décubitus latéral, le dos placé contre le corps d'une personne, la tête coincée derrière son coude.
- Retirer les poils au niveau du site de prélèvement à l'aide d'un rasoir ou des doigts.
- Nettoyer le site de prélèvement à l'aide d'alcool 70%.

- Étendre la patte arrière et effectuer une compression au-dessus du jarret.
- Ponctionner la veine à l'aide d'une aiguille 25G montée sur une seringue de 1 ou 3 ml et effectuer le prélèvement.
- Comprimer le site de ponction à l'aide d'une compresse jusqu'à l'arrêt du saignement (puisque la veine saphène latérale du lapin est très superficielle, la formation d'hématome à ce niveau peut facilement survenir).

#### 7.3.3 Veine jugulaire (2 personnes requises)

- Procéder à la sédation de l'animal (consulter la PNF M-16).
- Placer l'animal au bord de la table d'examen en décubitus sternal avec la tête vers le haut, en semi-extension. Les membres thoraciques peuvent être maintenus tendus vers le sol en dehors de la table.
- Effectuer une compression à l'entrée du thorax (base du cou). Le trajet des veines jugulaires est habituellement facilement visualisable une fois que la zone à ponctionner est imprégnée d'un peu d'alcool.
- Insérer une aiguille 21-23G, biseau vers le haut et récoltez le volume de sang requis.
- Comprimer le site de prélèvement à l'aide d'une compresse jusqu'à l'arrêt du saignement.

#### 7.3.4 Ponction cardiaque (procédure terminale)

- Procéder à l'anesthésie profonde de l'animal (consulter la PNF M-16).
- Vérifier la profondeur de l'anesthésie.
- Mettre l'animal en décubitus dorsal
- Insérer l'aiguille (18G 1 1⁄2" à 21G 1 1⁄2") à la gauche de la pointe du sternum avec un angle de 30 à 45 degrés.
- Prélever le volume de sang voulu puis procéder à l'euthanasie de l'animal (consulter la PNF M-14).

### 7.4 Prélèvement chez le porc

#### 7.4.1 Veine cave crâniale (2 personnes)

- Mettre le porc en position couchée avec la tête et le cou redressé et les membres antérieurs tirés vers l'arrière. Un dispositif de retenue en forme de V réglable rembourré ou une écharpe peut aider à tenir l'animal en position.

- Désinfecter la zone à l'aide d'alcool 70%.
- Insérer l'aiguille (18-20G) biseau vers le haut dans un angle de 45-60 degrés dans la veine cave crânienne, légèrement latérale au sternum, et vers la droite de la ligne médiane.
- Prélever le volume de sang requis à l'aide de la seringue en respectant les paramètres de l'annexe I.
- Comprimer le site de prélèvement à l'aide d'une compresse jusqu'à l'arrêt du saignement.

#### 7.4.2 Veine jugulaire (2 personnes)

- Mettre une corde au niveau du museau de l'animal en s'assurant qu'elle passe derrière les canines afin d'étirer le cou vers le haut ou tenir la tête de l'animal vers le haut.
- Désinfecter la zone à l'aide d'alcool 70%.
- Piquer la veine perpendiculairement à la peau à l'aide d'une seringue munie d'une aiguille 20G ou d'un papillon.
- Prélever le volume de sang requis en respectant les paramètres de l'annexe I.
- Comprimer le site de prélèvement à l'aide d'une compresse jusqu'à l'arrêt du saignement puis relâcher l'animal.

#### 7.4.3 Veine marginale de l'oreille

- Désinfecter le site de prélèvement à l'aide d'alcool 70%.
- Une anesthésie locale et topique (par exemple : la crème EMLA) peut être utilisée.
- Réchauffer l'oreille à l'aide des mains ou d'eau tiède pour dilater la veine.
- Insérer le papillon (25G ou 23G) vers la base de l'oreille et collecter à l'aide d'une seringue.
- Comprimer le site de prélèvement à l'aide d'une compresse jusqu'à l'arrêt du saignement.

### 7.5 Complications possibles

- Un prélèvement rapide d'un pourcentage élevé du volume sanguin fait sur une très courte période peut engendrer un choc hypovolémique néfaste. De plus, même s'il est étalé dans le temps, le prélèvement d'un grand pourcentage du volume sanguin peut engendrer une anémie. Il est donc essentiel de s'assurer que, lors du prélèvement de pourcentages élevés du volume sanguin, les animaux soient en santé (ex. bien hydratés, sans inflammation, ni infection).

- Signes cliniques d'hypovolémie observables chez la souris **:**
  - Faiblesse, pâleur, respiration rapide et superficielle, extrémités froides.
  - L'animal doit être euthanasié**.**

- Signes cliniques d'anémie chez les animaux **:**
  - Faiblesse, pâleur, anorexie, tachycardie.
  - Une période de repos sera obligatoire avant la reprise des prélèvements, consulter le vétérinaire pour le plan de traitement.

- Tout animal démontrant des signes cliniques attribuables à l'hypovolémie à la suite d'une prise de sang, indépendamment du volume prélevé, devra immédiatement recevoir de 3 à 4 volumes de fluides de remplacement en injection sous-cutanée par volume sanguin prélevé.

## 8. RÉFÉRENCES / PROCÉDURES CONNEXES


- PNFs M-07, M-14, M-16, M-18
- Lignes directrices du CCPA : les souris (2019)
- Lignes directrices du CCPA : les rats (2020)
- Lignes directrices du CCPA : les procédures scientifiques (Partie A – L'administration de substances et l'échantillonnage biologique) (2025)
- Heimann et al (2010). "Sublingual and submandibular blood collection in mice: a comparison of effects on body weight, food consumption and tissue damage". *Laboratory animals* (44). Site: https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1258/la.2010.010011
- NC3Rs (2022). "Blood sampling". Site: https://www.nc3rs.org.uk/3rs-resources/blood-sampling
- NIH (2024)." Guidelines for survival bleeding of mice and rats". Site: https://oacu.oir.nih.gov/animal-research-advisory-committee-arac-guidelines
- Site: https://oacu.oir.nih.gov/system/files/media/file/2022-12/b2-Survival_Blood_Collection_Mice_Rats.pdf
- Diehl et al (2001). "A Good Practice Guide to the Administration of Substances and Removal of Blood, Including Routes and Volumes." *Journal of Applied Toxicology* (21)
- Fox et al (2002). Laboratory Animal Medicine (2nd ed.). New York City, NY: Academic Press


## 9. HISTORIQUE DES MODIFICATIONS

| Date | Modifications | Version |
|---|---|---|
| 2016-02-09 | Révision par Pascal Vachon | 2.0 |
| 2019-08-09 | Mise à jour par Geneviève L. Roy | 3.0 |
| 2022-07-08 | Ajout des volumes de sang en circulation et modification de la section information. | 4.0 |
| 2024-12-01 | Retrait des informations sur les chats et mise à jour | 5.0 |
| 2025-04-29 | Refonte de la PNF | 6.0 |

**ANNEXE I : Volume sanguin en circulation et volume de prélèvement acceptable, par espèce animale, basés sur le poids corporel et la période de récupération minimale**

| Espèce | Poids corporel | Volume sanguin en circulation | | Volumes limites (ml) et période de récupération | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | 1% | 7,5% | 10% | 15%* |
| | | (ml/kg) | (ml) | 1 jour | 1 semaine | 2-4 semaines | 4 semaines |
| Souris | 20 g | 58,5 | 1,2 | 0,012 | 0,090 | 0,120 | 0,18 |
| | 25 g | | 1,5 | 0,015 | 0,112 | 0,150 | 0,225 |
| | 30 g | | 1,8 | 0,018 | 0,135 | 0,180 | 0,270 |
| Rat | 200 g | 64 | 12,8 | 0,128 | 0,096 | 1,28 | 1,92 |
| | 300 g | | 19,2 | 0,192 | 1,44 | 1,92 | 2,88 |
| | 400 g | | 25,6 | 0,256 | 1,92 | 2,56 | 3,84 |
| Lapin | 3 kg | 56 | 168 | 1,68 | 12,6 | 16,8 | 25,2 |
| | 4 kg | | 224 | 2,24 | 16,8 | 22,4 | 33,6 |
| | 5 kg | | 280 | 2,8 | 21 | 28 | 42 |
| Porc | 20 kg | 65 | 1300 | 13 | 97,5 | 130 | 195 |
| | 25 kg | | 1650 | 16,50 | 124 | 165 | 248 |
| | 30 kg | | 1950 | 19,50 | 146 | 195 | 293 |

*Le volume doit être prélevé sur 24 h et non en un seul prélèvement et doit être compensé par l'injection de fluides isotoniques.

## ANNEXE II : Récapitulatif des sites de prélèvements sanguins selon les espèces

Sites de prélèvements sanguins chez les rongeurs

| Sites de prélèvement | Commentaires |
|---|---|
| Veine mandibulaire | • Souris seulement<br>• Ne requiert pas d'anesthésie<br>• Volumes modérés à grands<br>• Rapide, simple et très bonne qualité d'échantillon |
| Veines saphènes | • Souris et rat<br>• Ne requiert pas d'anesthésie<br>• Volumes faibles à modérés<br>• Moins rapide, bonne qualité d'échantillon<br>• Peu de risques de complications |
| Veine de la queue | • Souris et rat<br>• Ne requiert pas d'anesthésie<br>• Volumes faibles à modérés<br>• Simple, qualité d'échantillon modérée<br>• Peu de risques de complications |
| Veine jugulaire | • Rat seulement<br>• Requiert une bonne dextérité, technique plus difficile<br>• Grands volumes prélevés<br>• Prélèvement unique, peu répétable. |
| Ponction cardiaque (terminale) | • Grands volumes<br>• Requiert une anesthésie profonde et sans réveil, suivie d'une euthanasie |

Sites de prélèvements sanguins chez le porc

| Sites de prélèvement | Commentaires |
|---|---|
| Veine cave crâniale | • Permet de prélever de grands volumes (~ 5 à 30 ml)<br>• Ne requiert pas d'anesthésie |
| Veine marginale de l'oreille | • Permet de prélever de faibles volumes (~ 1 à 3 ml) |
| Veine jugulaire | • Permet de prélever des volumes modérés<br>• Ne requiert pas d'anesthésie |

Sites de prélèvements sanguins chez le lapin

| Sites de prélèvement | Commentaires |
|---|---|
| Veine marginale de l'oreille | • Requiert une contention<br>• Requiert une anesthésie locale (EMLA)<br>• Volume sanguin modéré de ~ 0.5 à 10 ml |
| Veine saphène | • Requiert une sédation et/ou sac de contention<br>• Requiert une seconde personne pour effectuer une bonne contention de l'animal<br>• Permet de prélever des volumes modérés<br>• Risque possible d'hématome |
| Veine jugulaire | • Requiert une sédation profonde<br>• Requiert une seconde personne pour effectuer une bonne contention de l'animal<br>• Permet de prélever des volumes modérés (~ 2 à 10 ml) |

| | |
|---|---|
| Ponction cardiaque (terminale) | • Requiert une anesthésie profonde et sans réveil, suivie d'une euthanasie.<br>• Prélèvement unique<br>• Permet de prélever de grands volumes (~ 60 à 100 ml) |

## ANNEXE III : Exemple de tubes de récolte selon les applications

| Type d'échantillon | Couleur du tube* | Anticoagulant |
|---|---|---|
| Sang entier ou plasma | Mauve | EDTA |
| Plasma | Vert | Héparine |
| Sérum | Rouge ou normal | Activateur de coagulation ou Aucun |
| Sang / épreuves de coagulation | Bleu ciel | Citrate de sodium |
| Analyse de population immunitaire par cytométrie | N/A | Solution de PBS EDTA 2mM |

*Quelle que soit la marque de commerce du tube utilisé, le code de couleur reste le même.