

# **Chapitre III**

## **Manipulation sur l'animale de laboratoire**

# **1-Facteurs influençant les résultats en expérimentation animales**

Lorsqu'ils effectuent une recherche, les chercheurs ont besoin de groupes expérimentaux et contrôlés en tous points identiques, sauf pour la variable étudiée. Toutefois, de nombreux facteurs non expérimentaux peuvent influencer les animaux de laboratoire et, par conséquent, les résultats de l'étude. Ces facteurs devraient être identifiés et pris en compte à toutes les étapes pour éviter qu'ils brouillent les résultats expérimentaux ou accroissent la dispersion des résultats.

Il existe de nombreux facteurs qui peuvent influencer la réaction d'un animal de laboratoire au cours d'une expérimentation. Ces facteurs peuvent être classés en plusieurs points ; facteurs liés aux animaux, facteurs physiques et environnementaux, facteurs liés à l'entretien, aux manipulations et aux soins courants et facteurs liés à la manipulation et l'investigation expérimentales mêmes.

## **1-1- Facteurs liés aux animaux**

Certains facteurs pouvant influencer les résultats du projet de recherche sont liés aux animaux mêmes. On peut citer les exemples suivants :

### **1-1-1- Âge, sexe et état reproducteur**

En recherche, l'âge de l'animal est une variable importante à contrôler, car les jeunes animaux peuvent avoir des réactions différentes des animaux plus âgés. Par exemple, le nombre de globules blancs, la réponse immunitaire et l'activité des enzymes peuvent varier selon l'âge de l'animal. On peut également compter le sexe de l'animal parmi ces variables. En effet, chez les femelles, la biotransformation de certains éléments chimiques dans le foie a tendance à être moins rapide que chez les mâles, ce qui signifie que la toxicité de certains composés peut différer selon les sexes et que différentes doses d'anesthésiants ou de médicaments d'ordonnance pourraient être requises. L'état reproducteur est une autre variable, car la physiologie des femelles gestantes ou de celles qui allaitent est manifestement différente de celles qui ne sont pas gestantes ou qui n'allaitent pas. De plus, les variations hormonales qui se produisent pendant les différentes périodes du cycle œstrien peuvent influencer les résultats chez les femelles.

### **1-1-2- Constitution génétique**

Une considération importante concerne la constitution génétique de l'animal. Les animaux proviennent-ils de lignées endogames ou exogames ? À la base, tous les animaux de lignées endogames sont génétiquement identiques, mais il est important de comprendre qu'il peut exister des différences subtiles entre les animaux de même lignée qui proviennent de fournisseurs différents. La plupart du temps, on préfère les animaux provenant de lignées endogames plutôt que ceux de lignées exogames, car la diversité génétique réduite signifie qu'un nombre d'animaux moindre est nécessaire pour que les résultats de la recherche soient statistiquement valides. Par contre, les animaux de lignées endogames ont tendance à être plus petits et moins robustes que les animaux de lignées exogames.

Est-ce que les animaux sont génétiquement modifiés ? La modification génétique peut avoir une incidence non seulement sur le gène étudié, mais elle peut également modifier le phénotype de l'animal de façon inattendue et affecter les résultats de la recherche.

### **1-1-3- Flore microbienne**

La plupart des animaux utilisés en recherche portent en eux une population microbienne mixte qui dépend en partie de leurs conditions d'hébergement, de leur alimentation, de leur exposition aux microbes ainsi que d'autres facteurs. Ces microbes peuvent représenter une source de variabilité entre des animaux hébergés dans différentes animaleries et peuvent avoir une influence sur les paramètres tels que les besoins nutritionnels et le métabolisme des médicaments. En outre, la flore microbienne peut influencer le phénotype des animaux génétiquement modifiés.

#### **1-1-4- Rythmes biologiques (rythmes circadiens)**

Les rythmes biologiques ou les rythmes circadiens peuvent également avoir une influence sur les résultats d'une recherche. Le métabolisme d'un animal fluctue selon le moment de la journée, conformément à un rythme circadien déclenché par l'exposition à un cycle de lumière. Les animaux nocturnes tels que les rongeurs sont plus actifs pendant la phase d'obscurité et leur métabolisme augmente pendant cette période. Ceci signifie que les médicaments, par exemple les anesthésiants, peuvent avoir un effet variable en fonction du moment de la journée où ils sont administrés. Il est donc très important d'effectuer les manipulations au même moment de la journée pour tous les animaux.

#### **1-1-5- Maladies**

La maladie est parmi les facteurs qui peuvent avoir le plus d'influence sur les résultats de la recherche.

##### **a) Maladies cliniques**

Chez les animaux utilisés en recherche, la maladie peut être d'origine clinique, ce qui signifie qu'elle est apparente et que les animaux présentent des signes de maladie. Il est évident que ces animaux sont peu utiles en recherche, parce que leurs mécanismes sont perturbés par la présence de la maladie.

##### **b) Maladies subcliniques**

Cependant, les maladies affectant les animaux de laboratoire sont plus souvent subcliniques ou silencieuses, ce qui signifie que l'animal peut sembler être en bonne santé malgré la présence d'agents infectieux. Ces infections subcliniques peuvent néanmoins brouiller les résultats de la recherche en modifiant la réaction immunitaire, le métabolisme des médicaments, le comportement et l'état reproducteur du modèle animal.

#### **1-2- Facteurs physiques ou environnementaux**

Outre les facteurs liés aux animaux, il existe dans l'environnement de nombreux facteurs qui peuvent influencer la réaction des modèles animaux aux manipulations expérimentales. Ces facteurs, physiques et environnementaux, incluent :

##### **1-2-1- Température de la pièce**

Les petits animaux de laboratoire réagissent aux variations de température en modifiant leur comportement (p. ex. des frissons, un contact physique entre individus) et la vitesse de leur métabolisme (notamment la consommation d'une plus grande quantité de nourriture s'ils doivent augmenter la température de leur corps). Ces modifications peuvent se répercuter sur plusieurs processus métaboliques, y compris le métabolisme des médicaments. Par conséquent, on devrait limiter les fluctuations journalières de température ambiante à  $\pm 2$  °C (à l'aide d'un bon système de chauffage et de ventilation). On devrait aussi assurer le suivi et l'enregistrement des fluctuations journalières de température.

Pour certains types d'études, il peut être nécessaire de mesurer les paramètres à l'intérieur des cages (microclimat) et non seulement ceux de la salle où elles se trouvent. La température à l'intérieur d'une cage peut être beaucoup plus élevée que la température dans cette salle, en particulier si la cage héberge un grand nombre d'animaux et qu'elle est placée sur le haut du support à cages. La température dans les cages à microisolation statiques sera probablement plus élevée que celle dans les cages ouvertes ou dans les cages ventilées individuellement.

##### **1-2-2- Humidité relative**

L'humidité relative de l'environnement immédiat des animaux (microenvironnement) est un autre facteur pouvant avoir des répercussions chez les animaux d'expérimentation. Les niveaux d'humidité relative peuvent avoir une incidence sur la thermorégulation, la consommation alimentaire, la performance de l'animal et la transmission de maladies.

La plupart des espèces animales préfèrent une humidité relative entre 40 et 60 %. Les niveaux d'humidité choisis devraient être adéquats pour les espèces et demeurés relativement constants ( $\pm 5\%$ ). Si l'humidité relative est basse pendant une longue période, cela peut entraîner une irritation des voies respiratoires et des cas de nécrose annulaire de la queue chez les jeunes rats non sevrés.

### **1-2-3- Ventilation**

Dans une animalerie, il est nécessaire d'avoir un taux de renouvellement de l'air élevé pour évacuer la chaleur, l'ammoniac, le gaz carbonique, ainsi que les particules en suspension dans l'air (la poussière et les allergènes) produits par les animaux. Selon le type de cage utilisée, l'environnement à l'intérieur d'une cage peut être grandement différent de celui de la salle. Par exemple, les cages à microisolation statiques peuvent contenir des concentrations élevées d'ammoniac et de dioxyde de carbone même si la ventilation est bonne dans la salle. Les gradients de pressions d'air des salles d'hébergement et des couloirs ou des différentes aires d'une animalerie constituent également un aspect important de la lutte contre la propagation des microorganismes. Dans une animalerie, la ventilation, les concentrations d'ammoniac et de CO<sub>2</sub> et la circulation d'air peuvent accuser des écarts importants d'un endroit à l'autre. Il est possible d'éviter les biais dus à ces facteurs en attribuant un emplacement aléatoire aux animaux des différents groupes de traitement sur le support à cages ou dans la pièce.

### **1-2-4- Éclairage**

Chez les animaux, l'éclairage revêt plusieurs aspects : le cycle circadien, l'intensité de la lumière et la longueur d'onde. Il est nécessaire que le cycle jour-nuit, ou circadien, soit commandé par une minuterie pour assurer un rythme diurne constant du métabolisme des animaux. Même l'exposition à de courtes périodes d'éclairage pendant la phase d'obscurité peut avoir une incidence sur le rythme diurne et avoir des répercussions sur le rendement reproductif de l'animal et sur son métabolisme, ce qui peut avoir une incidence sur les résultats de l'étude. Par exemple, l'exposition à un faible éclairage pendant la phase d'obscurité peut favoriser le développement de tumeurs chez les rats. Le matin, l'allumage soudain de l'éclairage a des répercussions sur la concentration de certaines hormones, et ces effets peuvent se prolonger plusieurs heures.

L'intensité et la longueur d'onde de la lumière ont également une certaine importance. Les rongeurs albinos en particulier subissent des lésions de la rétine lorsque l'intensité de l'éclairage dans la cage dépasse 300 lux. Il a été démontré que la longueur d'onde à laquelle sont exposées les souris influence le poids de leurs organes ainsi que la durée de leur cycle œstrien. L'intensité lumineuse à l'intérieur d'une cage dépend de facteurs tels le type de cage, la proximité de la cage à la source de la lumière, la présence de dispositifs d'enrichissement de l'environnement opaques comme des tunnels ou des maisons, ainsi que la durée de la vie des ampoules et la réflectivité des surfaces de la salle. Dans les études où l'intensité de l'éclairage risque d'influencer les résultats, on peut tenter d'éviter les biais de cette nature en attribuant aux animaux des différents groupes de traitement un emplacement aléatoire sur le même support à cages.

### **1-2-5- Bruit**

Les effets du bruit sur le comportement et les réactions des animaux de laboratoire en recherche biomédicale ont été trop peu étudiés. Il est bien connu que les bruits forts peuvent déclencher des convulsions chez les jeunes rongeurs (on s'est fondé sur ce phénomène pour créer un modèle de crises audiogènes). L'intensité et la fréquence du son ont leur importance. Les rongeurs et certaines autres espèces d'animaux sont très sensibles aux ultrasons dont nous pouvons ignorer l'existence parce que notre oreille ne les perçoit pas. Les bruits de basses fréquences, par exemple ceux provenant d'un chantier de construction voisin, peuvent également déranger les animaux. Le bruit a une incidence sur de nombreux types de recherches. Par exemple, des études sur les animaux de laboratoire ont démontré que le bruit perturbe la consommation d'aliments et d'eau, le système reproductif, la pression artérielle, la réponse immunitaire, la numération des globules blancs, les taux de cholestérol dans le sang ainsi que la capacité d'apprentissage.

### **1-2-6- Alimentation et eau**

Un important élément de la recherche faisant appel à l'utilisation des animaux consiste à leur fournir un régime alimentaire adapté et reproductible qui répond à leurs besoins nutritionnels. Puisque les éléments composant un régime alimentaire peuvent varier d'une saison à l'autre ou d'un lot à l'autre et entraîner des modifications en ce qui concerne la physiologie et le métabolisme d'un animal, les régimes purifiés comportant des variations minimales sont essentiels dans plusieurs types de recherches. De nombreux régimes alimentaires pour les animaux de laboratoire sont également « certifiés » et n'excèdent pas la quantité maximum de contaminants connus ni de résidus chimiques pouvant brouiller les résultats de la recherche.

De l'eau conforme aux normes pour la consommation humaine doit être offerte aux animaux de laboratoire. Il ne s'agit ici que d'une exigence minimale étant donné qu'il existe d'importantes différences dans la qualité de l'eau potable provenant de sources différentes. L'eau peut contenir des impuretés, notamment des bactéries, des métaux lourds et des traces de produits chimiques comme les pesticides, ce qui peut avoir une incidence sur la recherche. En outre, les quantités de ces contaminants peuvent varier selon les saisons ou les conditions météorologiques locales. C'est pour cette raison que la purification de l'eau par osmose inversée est en voie de devenir la norme. Dans certaines animaleries, l'eau est traitée par acidification ou javellisation pour éliminer la prolifération des bactéries. Ces deux méthodes peuvent influencer sur les résultats de la recherche. Par exemple, l'acidification de l'eau peut causer le lessivage de produits chimiques contenus dans les bouchons de caoutchouc utilisés pour les bouteilles d'eau et les sous-produits de la javellisation peuvent modifier les paramètres hématologiques des animaux.

### **1-2-7- Litière**

Dans la plupart des animaleries, les procédures normalisées de fonctionnement (PNF) contiennent des dispositions relatives à la litière qui devrait être régulièrement fournie aux animaux. Le chercheur principal doit préciser s'il y a des exigences particulières concernant la litière. On connaît bien le phénomène d'activation des systèmes d'enzymes hépatiques (enzymes P450) par les résines contenues dans les litières de bois mou (exemple : les copeaux de cèdre). Cela peut brouiller les résultats si l'étude porte sur l'activité des enzymes hépatiques.

## **1-3- Facteurs liés à l'entretien, aux manipulations et aux soins courants**

De très nombreuses sources de stress peuvent influencer les processus physiologiques et biochimiques de l'animal ainsi que son comportement. Les sources de stress liées aux manipulations et aux soins sont le transport, l'hébergement et les manipulations effectuées par le personnel de soin aux animaux ainsi que par le personnel de recherche.

### **1-3-1- Transport**

Comme les animaux de laboratoire sont rarement utilisés à l'endroit même où ils ont été élevés, ils doivent généralement être transportés vers l'établissement où le projet de recherche se déroulera. Diverses études ont démontré que le transport cause un stress plus ou moins prononcé chez les animaux et qu'il leur faut un certain temps après leur arrivée à l'établissement pour retrouver un état physiologique normal. De façon générale, les habitudes alimentaires et la croissance reviennent à la normale environ une semaine après l'arrivée à destination. Cependant, certaines légères modifications physiologiques et immunologiques peuvent être plus durables.

### **1-3-2- Hébergement**

L'espace dont dispose chaque animal et le nombre d'animaux par cage peuvent avoir une influence sur la réaction des animaux lors d'une expérimentation. Tous les animaux utilisés pour une étude donnée devraient être placés dans des cages identiques, de sorte que l'espace dont chacun d'eux dispose et le nombre d'animaux par cage demeurent constants au cours de l'étude. La conception de la cage est également un facteur important, car il existe des différences significatives entre les différents types de cages (les cages ouvertes, les cages à

microisolation statiques ou les cages individuellement ventilées en ce qui concerne la température, l'humidité et la qualité de l'air, ainsi que l'intensité du bruit et des vibrations).

Des études ont montré que le nombre de rongeurs par cage avait un effet sur leur niveau de stress (l'isolement ou la surpopulation) et leur croissance. De façon générale, les petits rongeurs devraient être hébergés en petits groupes pour réduire le stress et créer un enrichissement social. Si les animaux doivent être hébergés dans des cages individuelles aux fins de la recherche, cet aspect devrait être justifié par des arguments scientifiques auprès du comité de protection des animaux de l'établissement.

### **1-3-3- Soins courants**

Les opérations quotidiennes effectuées par le personnel de soin aux animaux peuvent exercer une forte influence sur la réaction des animaux lors d'une expérimentation. De façon générale, les animaux devraient tous être manipulés de façon uniforme et au même moment de la journée ; si cela est impossible, on doit les manipuler de façon aléatoire. Les manipulations devraient se faire de manière douce et consistante. La plupart des animaux s'habituent vite aux personnes qui s'en occupent régulièrement et ressentent plus de stress lorsque des inconnus les manipulent.

Le mode de manipulation d'un animal peut modifier son comportement ou sa physiologie et, par conséquent, influencer sa réaction dans une étude. On peut citer l'exemple d'une étude de manipulation menée chez les porcs. En 1987, Hemsworth et ses collaborateurs ont publié un article présentant une étude comparative des réactions observées chez les porcs lors de trois types de manipulations (manipulations agréables, manipulations désagréables et manipulations réduites au minimum). Les porcs ayant fait l'objet de manipulations agréables s'approchaient plus volontiers des humains.

### **1-4- Facteurs liés à la manipulation aux fins de la recherche**

Pour obtenir des résultats valides en réduisant au minimum le nombre d'animaux utilisés, le chercheur et le personnel de recherche doivent non seulement prendre en compte et contrôler de nombreuses variables non expérimentales, mais aussi de nombreuses variables expérimentales.

#### **1-4-1- Moment et durée de la manipulation**

Les paramètres biochimiques et physiologiques suivent des cycles circadiens normaux qui influencent la réaction de l'animal à l'administration de traitements ou à la prise de prélèvements selon le moment de la journée où ces manipulations sont effectuées. La prise d'échantillons multiples devrait donc se faire toujours à la même heure.

La durée des manipulations subies par chaque animal devrait également être uniformisée autant que possible. Des modifications biochimiques et hématologiques apparaissent dès que l'animal est sorti de sa cage. Les études montrent que certains de ces changements persistent dans les minutes ou les heures qui suivent et qu'ils se répercutent sur les résultats. Dans tous les groupes de traitement y compris les groupes témoins, le temps consacré à la prise d'échantillons doit demeurer constant (à partir du moment où l'animal est retiré de sa cage).

Les manipulations courantes des animaux, comme le déplacement des rats dans des cages propres, peuvent provoquer des changements cardio-vasculaires et des comportements transitoires bien que significatifs. Le chercheur et le personnel de soin aux animaux devraient être conscients que de telles manipulations peuvent brouiller les résultats recueillis peu de temps après.

#### **1-4-2- Facteurs expérimentaux de stress**

Par expérience, les animaux savent ce qui leur arrive lorsqu'ils sont manipulés et ils apprennent très vite en quoi consistent les procédures courantes. Si ces manipulations sont effectuées avec compétence, non seulement l'animal est moins stressé, mais il accepte beaucoup plus facilement d'être manipulé. Pendant la période de conditionnement, les animaux devraient être soumis aux opérations courantes qui feront partie de l'expérimentation subséquente. Cet aspect est particulièrement important si l'étude nécessite l'emploi de

dispositifs spéciaux de contention tels que des colliers ou des revêtements munis de cathéters (exemple ; des rats reliés à des dispositifs d'enregistrement de l'activité cérébrale et des moutons placés dans une cage à métabolisme). Pour des raisons de bien-être animal ainsi que des raisons scientifiques, il importe d'habituer l'animal aux manipulations et aux appareils de contention avant le début du projet.

### 1-4-3- Douleur

La douleur peut également être un facteur important dans une recherche faisant appel à l'utilisation des animaux, car la douleur non traitée influence plusieurs aspects de la biologie et de la physiologie animale. À la suite de manipulations effectuées dans le cadre de l'expérimentation, la douleur ressentie par un animal dépendra de différents facteurs, notamment du choix, de la dose et du moment de l'administration de l'analgésique utilisé, de l'habileté du chirurgien ou de la personne qui manipule l'animal, des expériences antérieures de l'animal ainsi que de la présence de la peur et du stress chez celui-ci.

## 2- Manipulations sur l'animal

### 2.1-La contention

La contention est la manière de soulever et de fixer un animal sans lui causer de souffrances inutiles. Elle permet de minimiser les mouvements de l'animal lors des manipulations, administration de substances, injections, prélèvements... etc.

Une contention erronée peut provoquer un stress à l'animal, réaction agressive (morsures, fuite...). Des appareils de contention existent, ils facilitent énormément ces manipulations.

**Figure 04 :** Boîte de contention pour souris avec accès à la queue. Cette boîte permet, en plus de la fixation de l'animal, de pratiquer des injections et prélèvement de sang à partir de la queue. La façade est perforée pour la respiration normale.



**Figure 05 :** Contention manuelle d'un rat. Cette posture permet le gavage (administration intragastrique) ou injection intrapéritonéal.



## **2-2-Méthodes et voies d'administration**

Plusieurs méthodes d'administration sont proposées afin de faciliter l'introduction des différentes substances tout en minimisant les douleurs et les souffrances qui peuvent accompagner ces manipulations. Il est important de signaler de vérifier l'état et la disponibilité du matériel nécessaire avant l'immobilisation de l'animal.

### **2-2-1- Administration Intranasale (IN)**

Après la contention de l'animal, une seringue ou une pipette sont utilisées pour faire inhaler à l'animal la substance à administrer. Le geste peut être répéter jusqu'à l'administration de la quantité totale désirée.

### **2-2-2- Intramusculaire (IM)**

Une fois les animaux sont bien immobilisés et l'une des pattes arrière est libre et stabilisée, l'injection peut être faite, en utilisant une seringue. L'aiguille doit être introduite perpendiculairement à la peau de l'animal. En utilisant une seringue de taille appropriée et une aiguille, l'injection se fait dans le quadriceps de l'animal (l'avant de la cuisse) ou du côté latéral de la cuisse. Il faut éviter d'injecter dans le côté postérieur de la cuisse car il est possible d'endommager le nerf sciatique. On peut alterner les jambes si l'animal doit recevoir des injections intramusculaires multiples.

### **2-2-3- Intrapéritonéale (IP)**

L'animal est immobilisé selon une contention qui fixe la nuque et le dos de l'animal ce qui permet d'exposer l'abdomen pour l'injection. On localise la ligne médiane de l'animal et on divise mentalement l'abdomen en quadrants. Les quadrants inférieurs et surtout le quadrant inférieur droit sont les sites appropriés pour les injections intra-péritonéales. Le quadrant inférieur droit est choisi en raison de l'absence de structures anatomiques importantes. IP se fait à l'aide d'une seringue de taille appropriée et d'une aiguille. On alterne les sites d'injection si l'animal doit recevoir des injections répétées.

### **2-2-4- Sous-cutanée (SC)**

La contention de l'animal doit permettre une certaine mobilité de la peau. La peau dorsale est généralement privilégiée pour ce type d'administration. Si les injections sont répétées, on change les sites d'injections. On saisit la peau et on la tire vers le haut, on insert l'aiguille à un angle de 30 à 45°. Il faut s'assurer que le bout de l'aiguille est bien sous la peau. Si l'injection est réussie, il se formera un petit gonflement sous la peau. Après l'injection, on applique une légère pression pour empêcher le retour du produit injecté.

### **2-2-5- Intravasculaire (IV)**

Les veines gauches et droite arrière latéraux sont la voie d'accès la plus courante utilisée en IV chez les souris et les rats. D'autres voies d'accès vasculaires sont possibles chez les souris et les rats, mais exigent généralement une sédation et soulagement de la douleur post-injection.

Pour une injection dans la veine caudale, retenir l'animal dans une boîte de contention. La queue est placée sous une lampe ou sur un dispositif de réchauffement protégé. Cette pratique permet de promouvoir la dilatation des veines et faciliter ainsi l'injection

La queue est ensuite tenue par la pointe et est retournée d'un  $\frac{1}{4}$  de tour pour voir les veines (latérale ou dorsale). L'insertion de l'aiguille se fait avec un angle de 15-20°. L'injection se fait lentement. Le succès de l'injection se traduit par un blanchiment transitoire de veine au point de l'injection.



## **2-2-6- Intragastrique (gavage)**

Le gavage ne doit se faire que sur les animaux sobres et éveillés. L'anesthésie ou la sédation augmente le risque d'aspiration du produit et son passage dans les poumons. Des aiguilles spéciales, appelées sondes de gavage sont utilisées. Elles ont des pointes à billes à la fin pour empêcher leur passage dans la trachée.

L'animal est retenu de telle sorte que sa tête et le corps sont dans une ligne droite verticale. Cette contention redresse l'œsophage, ce qui facilite le passage de l'aiguille d'alimentation. On insère la pointe de la sonde dans la bouche de l'animal, sur la langue. Une fois que le bout de la sonde est en place, on pousse la sonde en appuyant doucement contre le palais. Si une tension est ressentie empêchant le passage de la sonde, on peut l'ajuster et la rediriger légèrement. On continue à passer de la sonde jusqu'à ce que la distance prédéterminée est atteinte. L'aiguille doit passer facilement, et l'animal ne doit pas haleter ou de s'étouffer. Une fois la sonde est en place, on applique l'administration la substance. Elle doit s'écouler dans l'estomac.

## **2-3- Méthodes de prélèvement de sang**

Le sang n'est prélevé que s'il est important de la faire. Le volume prélevé et la fréquence des prélèvements doivent être limités aux justes besoins de l'expérimentation. Le volume prélevé ne doit pas causer de contraintes à l'animal. Pour éviter tout risque, le volume autorisé ne doit pas dépasser 20% du volume sanguin total estimé en l'espace de deux semaines.

### **A) Techniques non terminales**

#### **2-3-1- Veine saphène latérale**

- Placer le rat dans un appareil de contention ou le tenir sur soi et immobiliser un membre postérieur en pinçant la peau au niveau du genou.
- Raser l'arrière de la patte.
- Avec un coton-tige, appliquer un peu d'onguent ophtalmique ou de la gelée de pétrole afin d'éviter que le sang ne se répande.
- Piquer la veine perpendiculairement avec une aiguille 18G à 23G.
- Récolter la ou les gouttes de sang avec un capillaire ou un tube de prélèvement préalablement ouvert.
- Effectuer une pression pour arrêter le saignement.
- La gale peut être retirée pour effectuer des prélèvements répétés.

#### **2-3-2- Veine jugulaire**

- Effectuer une contention de base de l'animal.
- Passer une ficelle derrière les incisives et ramener la tête vers le haut en tenant les bouts de la ficelle avec la main qui fait la contention.
- Maintenir le membre antérieur droit dans le dos de l'animal avec l'index ou le membre antérieur gauche avec le pouce afin de faire sortir la clavicule. Prendre soin de suivre les mouvements normaux de l'articulation afin de ne pas blesser l'animal.
- Appliquer un peu d'alcool pour visualiser la veine.
- Insérer dans la veine une aiguille 25G biseau vers le haut.
- Ne jamais insister pour soutirer le piston de la seringue, car la veine risque de s'affaisser.
- Soutirer le volume sanguin désiré et retirer l'aiguille.

- Effectuer une pression pour arrêter le saignement.

### **2-3-3- Veine caudale**

- Placer l'animal dans un appareil de contention prévu pour les injections intraveineuses.
- Utiliser la veine caudale gauche ou droite.
- Nettoyer la queue au besoin avec de la chlorhexidine 0,05 %.
- Réchauffer l'animal à l'aide d'une lampe chauffante ou d'un tapis chauffant ou bien réchauffer la queue avec de l'eau chaude afin d'induire une vasodilatation. La température du système utilisé doit être contrôlée en tout temps lors de l'utilisation d'une des méthodes mentionnées ci-haut (maximum 40 °C). Surveiller en tout temps les animaux afin d'éviter l'hyperthermie et les brûlures.
- Piquer la veine avec une aiguille 25G.
- Récolter la ou les gouttes de sang avec un capillaire ou un tube de prélèvement préalablement ouvert.
- Effectuer une pression pour arrêter le saignement.

### **2-3-4- Veine mandibulaire**

- Effectuer une contention de base et s'assurer que la tête est bien immobilisée.
- Localiser la rosette sur une des deux joues. La veine mandibulaire se trouve au-dessus de la rosette, légèrement vers l'arrière. Le site exact peut varier selon les souches de souris utilisées.
- Avec une aiguille 20G à 23G ou une lancette, piquer la veine mandibulaire perpendiculairement.
- Récolter la ou les gouttes de sang avec un capillaire ou un tube de prélèvement préalablement ouvert.
- Effectuer une légère pression pour arrêter le saignement.

### **2-3-5- Le prélèvement rétrobulbaire**

Il est pratiqué chez le rat, le hamster, le rat et la gerbille et la souris. Il permet de récupérer une plus grande quantité de sang (plus de 0.15ml). Il se pratique toujours sous anesthésie générale. A cause des lésions que ce type de prélèvement peut causer notamment la cécité. Il n'est pas autorisé de le répéter sur le même œil dans un laps de temps inférieur à deux semaines. Ce prélèvement doit être rejeté si d'autres moyens de prélèvements moins contraignants sont possibles.

## **B) Techniques terminales**

### **2-3-6- Ponction cardiaque**

- Anesthésier la souris selon la procédure en vigueur.
- Vérifier la profondeur de l'anesthésie.
- Placer l'animal en décubitus dorsal, fixer les pattes avant de chaque côté à l'aide de ruban adhésif ou d'aiguilles et d'une planche de liège. Palper la pointe du sternum et la dépression qui se trouve à sa gauche (gauche de la souris). Appliquer de l'alcool afin de bien visualiser le site.
- Utiliser une aiguille 25G 5/8" et une seringue de 1 à 3 ml selon la grosseur de la souris.
- Insérer doucement l'aiguille dans la dépression, biseau vers le haut, à un angle de 30 à 45 degrés, en exerçant une pression négative sur le piston de la seringue.
- Soutirer le maximum de sang.

- Si le sang ne vient pas, modifier l'emplacement de l'aiguille (plus ou moins profondément, modification de l'angle, etc.) en exerçant une pression négative sur le piston de la seringue.

### **2-3-7- Aorte abdominale**

- Anesthésier la souris selon la procédure en vigueur.
- Placer l'animal en décubitus dorsal.
- Vérifier la profondeur de l'anesthésie.
- Garder à portée de main une pince hémostatique afin de pouvoir arrêter un saignement accidentel.
- Ouvrir la cavité abdominale en forme de « V ».
- Déplacer les intestins vers la gauche de l'animal.
- Localiser et isoler l'aorte abdominale.
- Utiliser une aiguille 25G et une seringue 1 à 3ml selon la grosseur de la souris.
- Insérer l'aiguille BISEAU VERS LE BAS à la base de l'aorte pour éviter de recevoir du sang au visage dû à la pression sanguine élevée.
- Aussitôt l'aiguille insérée, soutirer le maximum de sang.