

T.P. N°05 : Prélèvements de sang et d'organes chez les animaux de laboratoire

✓ Protocole :

- **Principe:**

- Les prélèvements de sang sont nécessaires dans un grand nombre de procédures expérimentales, ce sont donc des interventions très fréquentes. Les prélèvements de sang chez les gros animaux domestiques ne posent aucun problème car leurs vaisseaux sont d'accès facile et leur volume sanguin important. Chez les petits animaux de laboratoire par contre les prélèvements de sang représentent une partie importante de la contrainte éprouvée pendant l'expérience.

- **Objectif:**

- Maîtriser les différentes possibilités pour prélever le sang et les organes chez les animaux de laboratoire

Produits chimiques et animaux	Consommable /Verrerie	Petits Matériels
<ul style="list-style-type: none"> • H₂O • Formol • 10 Rats de labo 	<ul style="list-style-type: none"> • Tubes conique de 50ml • Tube à essai • Tubes capillaires de l'hématocrite 	<ul style="list-style-type: none"> • Pinces*seringues5cc* seringues d'insuline*gants • Plaque chauffante • alcool • plaque d'anatomie • Trousse d'anatomie

✓ 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

Tableau 1 : volumes de sang prélevé en fonction de l'espèce.

Espèce animale	Poids corporel	Volume sanguin total	Volume du prélèvement ¹⁾
Rat	100 g	5 - 7 ml	1 ml
	200 g	10 - 14 ml	2 ml
	300 g	15 - 21 ml	3 ml
Souris	20 g	1,4 - 1,6 ml	0,28 ml
	30 g	2,1 - 2,4 ml	0,42 ml
Gerbille	80 g	4,8 - 6,8 ml	1 ml
Cobaye	400 g	26,8 - 36,8 ml	5,4 ml
	800 g	40,2 - 55,2 ml	8 ml
Hamster	150 g	9,75 - 12 ml	2 ml
Lapin	3,5 kg	154 - 245 ml	31 ml

➤ Types de prélèvements

1- La Ponction de la veine caudale latérale : utilisée pour des prélèvements allant jusqu'à 0.15ml. C'est une technique appliquée chez le rat.

2- L'incision de la veine caudale : est une méthode appliquée sur la souris, recommandée pour des prélèvements répétés de 0.1ml.

3- L'amputation unique de la pointe de la queue. Cette méthode est appliquée chez la souris, la gerbille (volume 0,15ml) et plus chez le rat et le hamster. La répétition des prélèvements se fera par simple soulèvement de la croûte formée sur la blessure.

4- La ponction de la veine linguale. Elle est recommandée chez le rat lorsque le volume de prélèvement nécessaire dépasse 0.15ml. Elle s'effectue toujours sous anesthésie générale.

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.

6- La ponction de la veine marginale de l'oreille. Il s'agit d'une méthode appliquée surtout chez le lapin. Une vasodilatation de la veine peut être provoquée par chauffage durant 10 à 15min. une incision de la veine peut être aussi envisagé si des volumes de sang plus importants sont nécessaires.

7- La ponction cardiaque. Elle est appliquée chez le cobaye, le hamster, et la gerbille et rejetée chez les autres animaux pour lesquels on dispose d'autres techniques de prélèvement permettant de récupérer une grande quantité de sang. La ponction cardiaque se fait sous anesthésie générale et par un personnel qualifié. Elle n'est pratiquée, généralement que pour une seule fois ou deux fois mais le deuxième prélèvement doit se faire sous anesthésie générale terminale.

8- La sonde à demeure. Si les volumes de sang sont importants, il faut favoriser la méthode dite sonde à demeure. Elle permet de récupérer de petits volumes d'une manière continue grâce au cathéter. Le sang prélevé est remplacé en continu par une solution de remplacement. L'implantation de cathéter se fait sous anesthésie générale souvent dans la veine jugulaire ou fémorale.

✓ Méthodes de prélèvement d'organes

1- La mise à mort de l'animal de laboratoire

La mise à mort, appelée aussi l'euthanasie, c'est de mettre fin à la vie de l'animal sans lui causer de souffrance, de stress ou de douleur. Les méthodes d'euthanasie doivent être « humaine ». La mise à mort ne peut être effectuée que s'il est nécessaire et est justifiée dans les cas suivants :

- Nécessité du protocole expérimental. Lorsqu'on arrive à la fin du protocole et une nécessité de l'examen histologique, l'animal est sacrifié et une autopsie de la cavité abdominale est donc réalisée.
- L'animal est très âgé
- Il présente une maladie grave induite ou spontanée
- Nombre d'animaux important par rapport à la capacité de l'animalerie et du personnel.

Des protocoles d'euthanasie sont nombreux. On y utilise soit des méthodes physiques (choc cranial, dislocation cervicale, décapitation) ou chimiques (anesthésiants) ou gazeux (chloroforme et l'éther) en fonction de l'objectif de la mise à mort et le type d'animal.

2- Prélèvement d'organes.

Après la mise à mort de l'animal, le prélèvement des organes pour une étude histologique doit se faire immédiatement pour éviter toute détérioration. Ils seront ensuite conservés ou non dans le formol à 10% , en fonction du type d'étude histologique envisagée.

2.1-Préparation de l'animal à l'autopsie

Généralement et avant son sacrifice, L'animal est mis à jeun la veille de l'autopsie. Le lendemain, il est sacrifié. L'animal est fixé en décubitus dorsal, sur une plaque en liège, les quatre membres attachés en abduction.

Une petite incision est pratiquée au niveau du périnée puis une seconde incision est pratiquée du point de la première incision jusqu'au menton. Deux autres lignes d'incision perpendiculaires à la première sont réalisées. Le dépouillement est réalisé à l'aide d'un bistouri en dilacérant le tissu conjonctif sous cutanée.

2.2- Autopsie de la cavité abdominale

Une incision longitudinale est réalisée le long de la ligne blanche de la pointe xiphoïdienne jusqu'à la symphyse pubienne et par deux incisions transversales en partant de la pointe xiphoïdienne jusqu'à l'hypochondre. Les deux pans de la paroi abdominale, vont être ensuite rabattus vers l'extérieur.

Le prélèvement est réalisé rapidement afin d'éviter toute dessiccation des organes. Ces organes sont mis, très rapidement, dans la solution de fixation (2-3 minutes entre le prélèvement et la mise en fixation). Le volume du fixateur est 10 fois supérieur au volume de la pièce anatomique.

Remarque : Dans d'autres cas, les organes sont directement mis dans une solution physiologique qui permet la conservation des structures histologique. Cette pratique est réalisée si une observation d'un état frais est envisagée.

