



UNIVERSITÉ
LAVAL

Direction des services vétérinaires

Procédure normalisée de fonctionnement

Objet : Technique d'évaluation des fonctions pulmonaires par oscillation forcée (flexiVent) chez les rongeurs	Numéro : TS-5
Portée : Ceci est une directive de la Direction des services vétérinaires à l'intention des utilisateurs et du personnel des animaleries de l'Université Laval (campus et centres de recherche affiliés).	
Préparée par Jessie Tremblay <i>Technicienne en santé animale conformité, Direction des services vétérinaires</i>	Date : 27 juillet 2022
Révisée par : Anne-Marie Catudal <i>Vétérinaire clinicienne, Direction des services vétérinaires</i> Marie-Josée Beaulieu <i>Professionnelle de recherche, équipe Dr Mathieu Morissette</i> Dany Patoine <i>Professionnel de recherche, équipe Dre Élyse Bissonnette</i>	Date : 2 septembre 2022
But : Décrire le processus d'évaluation des fonctions pulmonaires avec le test d'oscillation forcée effectué avec l'appareil flexiVent chez les rongeurs.	Version 1

Généralités

- La technique d'oscillation forcée (TOF) est effectuée avec l'appareil flexiVent (SCIREQ). Cet appareil permet d'analyser différents paramètres des fonctions pulmonaires par des jeux de pression et de volume qu'il induit dans le système respiratoire.
- La TOF est une procédure terminale effectuée sur un animal préalablement anesthésié.

Procédures

Préparation du matériel

- Sélectionner une canule de calibre approprié selon l'espèce et la grosseur de la trachée.
- Calibrer la canule avec le flexiVent selon les indications du fabricant.

Préparation de l'animal

- Peser l'animal et calculer la quantité de drogues injectables requises pour l'anesthésie.
- Anesthésier l'animal aux drogues injectables conformément à la PNF A-1 Analgésie et anesthésie des rongeurs.
- Ajuster la profondeur de l'anesthésie à un niveau chirurgical conformément à la PNF A-1.
- Placer l'animal en position dorsale, les pattes antérieures perpendiculaires au corps, et fixer les quatre pattes avec du ruban adhésif pour que la tête et le corps de l'animal soient droits.

Trachéotomie et TOF flexiVent (SCIREQ)

- Infiltrer un anesthésique local (lidocaïne et bupivacaïne) au site d'incision selon la PNF A-1. Attendre 3 minutes avant d'inciser la peau.
- Mettre de l'alcool sur le poil du cou. À l'aide d'un ciseau, enlever la peau du cou, puis séparer les glandes salivaires et les tissus musculaires pour exposer la trachée.
- Au besoin, passer un fil de suture 3-0 ou 4-0 sous la trachée qui servira plus tard pour maintenir la canule.
- Faire une incision sur la surface de la trachée, entre 2 anneaux de cartilage, le plus près possible du larynx. L'incision doit être assez grande pour permettre d'y insérer la canule, sans plus.
- Insérer la canule préalablement calibrée à 4 ou 5 anneaux de cartilage de profondeur. Si applicable, attacher le fil à suture avec 1 nœud autour de la canule pour éviter les fuites d'air.
- Démarrer la ventilation mécanique du flexiVent. Approcher l'animal près du ventilateur et connecter la canule via la tubulure en Y. Bien aligner l'animal et prendre soin de placer la canule au même niveau que la tubulure de l'appareil. S'assurer que le tracé des volumes et des pressions est régulier et que l'abdomen de l'animal bouge au même rythme que la ventilation. Vérifier l'étanchéité du système selon les indications du fabricant. Au besoin, aligner à nouveau l'animal et replacer la canule plus ou moins profondément dans la trachée.
- Au besoin, pour bloquer les réflexes respiratoires et ainsi mesurer uniquement la réponse du muscle lisse, administrer du bromure de pancuronium (véhicule saline) :
 - Rats : administrer 2 mg/kg intrapéritonéal d'une solution de 2 mg/ml;
 - Souris : administrer 0,1 mg/kg intrapéritonéal ou intramusculaire d'une solution de 20 ug/ml;
 - Si l'effet n'est pas optimal, se référer au vétérinaire pour ajuster la dose.

- Prendre les mesures requises au flexiVent (SCIREQ). Débrancher rapidement l'animal du respirateur mécanique et procéder à l'euthanasie selon la méthode prescrite au protocole.

Utilisation de la méthacholine

- La méthacholine est utilisée pour mesurer l'hyperréactivité bronchique. Son utilisation peut causer une baisse du rythme cardiaque. Pour cette raison, un électrocardiogramme (ECG) doit être utilisé pendant le test pour s'assurer que le rythme cardiaque est suffisamment élevé avant chaque administration de méthacholine.
- Installer l'animal canulé sur le flexiVent comme décrit précédemment.
- Brancher l'ECG sur l'animal.
- Par nébulisation :
 - Vérifier que le rythme cardiaque de l'animal est normal.
 - Ajouter la méthacholine dans le nébuliseur du flexiVent.
 - Répéter ces 2 étapes pour chaque nouvelle concentration de méthacholine en prenant soin de retirer le volume résiduel de méthacholine dans le nébuliseur avant d'y déposer la prochaine concentration.
- Par voie intraveineuse :
 - Préparer une aiguille d'un calibre approprié (voir PNF Administration et injection de l'espèce concernée) reliée à une tubulure ou un papillon.
 - Remplir l'aiguille et la tubulure de saline et retirer les bulles d'air.
 - Insérer l'aiguille dans la veine jugulaire exposée (prévoir une incision plus grande au niveau du cou de l'animal pour exposer la veine jugulaire et la trachée).
 - Vérifier le rythme cardiaque avant la première administration de méthacholine.
 - S'assurer que le rythme cardiaque est revenu à la fréquence initiale avant chaque injection de méthacholine :

	Souris	Rat
Fréquence cardiaque moyenne (animal éveillé) *	470/minute	350/minute

*Ces valeurs tendent à diminuer chez un animal sous anesthésie générale.

- Administrer la méthacholine via la tubulure. Respecter les volumes d'administration maximaux suivants :

	IV bolus (ml) ^a	IV injection lente (ml) ^b
Souris de 25 grammes	0,12	0,62
Rat de 250 grammes	1,25	5

^a L'administration du produit est effectuée rapidement, entre 30 secondes et 1 minute.

^b L'administration du produit est faite sur un minimum de 5 minutes.

- Le test à la méthacholine se termine lorsque la résistance pulmonaire atteint un sommet.
- Débrancher rapidement l'animal du respirateur mécanique et procéder à l'euthanasie selon la méthode décrite au protocole.

Références

McGovern TK, Robichaud A, Fereydoonzad L, Schuessler TF, Martin JG. *Evaluation of respiratory system mechanics in mice using the forced oscillation technique*. J Vis Exp. 2013 May 15;(75):e50172. doi: 10.3791/50172. PMID: 23711876; PMCID: PMC3684007.