

# Micro-sampling

Louise Nielsen / Joy Stephanie Winer @ Lundbeck Animal Facility  
H. Lundbeck A/S, Valby, Denmark



## Micro-sampling procedure

Musen sættes under en varmelampe i sin hjemmekasse i ca. 5 minutter før venepunktur, for at udvide venen. Musen sættes på IV holderen, og der laves en lille punktur med en 25G 0,50 x 16 mm kanyle, blodet opsamles med Minivette® POCT 10 µl.

Det er vigtigt ved IV dosering at de første 4 blodprøver tages i modsatte vene end den man doserer stoffet i.

Blødningen stoppes herefter med en serviet og let tryk på halen

Det er vigtigt der nøjagtigt bliver overført 10 µl blod til PCR rør forfyldt med 40µl 0,4% w/v citrat buffer i PBS.

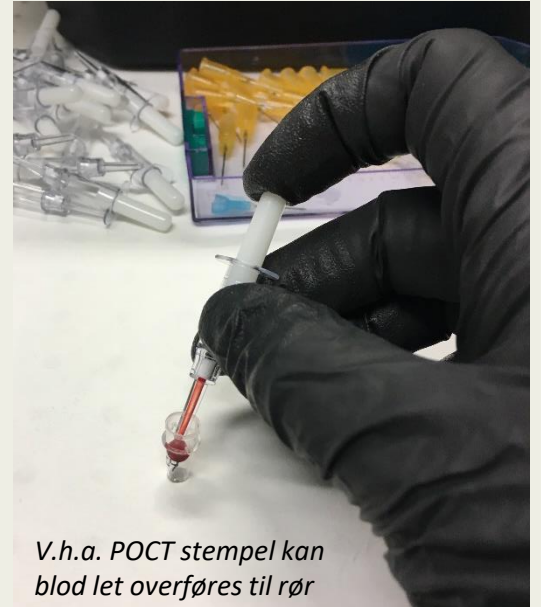
De fyldte rør med citrat buffer opbevares på frost, og optøes kort før brug. Det er vigtigt at de ikke opbevares i rum temperatur i mere end 12 timer.

Blodprøverne opbevares på "våd" is for at minimere hæmolyse. Blodprøver centrifugeres ved 4°C i 10 minutter ved 2500g.

Der kan afpippettes 40µl plasma efter centrifugeringen.



Blod suges op via POCT



V.h.a. POCT stempel kan blod let overføres til rør



Rør med citratbuffer og rør med citratbuffer og blod



Efter centrifugering er prøven klar til afpippetting



(Matrix tube 2D 500 µL cat no 3750 rack cat no 4899)

Valg af rør afhænger af tilgængelig prøvevolumen. Vi anvender 2D strekkode matrixrør, de er dog for små til at bære en etiket, derfor anbefales det at bruge strekkoden til prøveregistrering, når der arbejdes med små prøvemængder.

## Refinement

Der udtages 10µl blod fra halevenen.

Blodprøvetagningen bør ikke tage længere end 1 minut efter venepunktur. Der stikkes kun 3 gange, derefter er det missing sample.

## Reduction

Micro-sampling metoden giver mulighed for at indsamle flere blodprøver fra den samme mus, for at opnå en fuld PK-profil i et dyr ved hjælp af små gentagne blodprøver. Micro-sampling procedure tillader flere gentagne blodprøver, mens retningslinjerne for den maksimale blodprøvevolumen overholdes. Det vil sige, at vi bruger færre dyr i dette setup end førhen.



<https://www.sarstedt.com/en/products/new-products/10ul-minivette-poct-neutral/>

Minivette® POCT 10 µL indeholder ikke EDTA eller andet antikogulant

## Citratbuffer

Citratkoncentreret opløsning (4%) (CAS: 68-04-2 Sigma: S5770) fortyndes 10 x med Dulbecco's Phosphate Buffered Saline (DPBS) (+ CaCl<sub>2</sub> og MgCl<sub>2</sub>) til en slutkoncentration på 0,4% (w/v). 40 µL af den fortyndede citratbuffer overføres til PCR-rør under aseptiske forhold ved hjælp af robot (for at minimere risikoen for, at kontaminanter overføres til dyrefaciliteten). Rørene opbevares i fryser i indtil brug.

## Hæmatokritværdi

Hæmatokritværdien er ikke en fast værdi, men ligger imellem 40 og 60 %. Fortyndingsfaktoren på 8,3 er beregnet ud fra den antagelse, at lægemidlet ikke kommer ind i de røde blodlegemer, og at de røde blodlegemer udgør 45% af blodvolumenet. Ved at bruge 10 µl blod som eksempel ville volumen uden røde blodlegemer være  $10 \mu\text{l} \times 0,55 = 5,5 \mu\text{l}$ . Fortyndingen med 40 µl buffer giver en endelig fortyndingsfaktor på  $(5,5 \mu\text{l} + 40 \mu\text{l}) / 5,5 \mu\text{l} = 8,3$ .

For små molekyler vil fortyndingsfaktoren afhænge af blod-til-plasma-forholdet. Citratbuffer tilsættes, fordi i 10 µl minivette POCT ikke indeholder antikoagulant. Valg af antikoagulant kan påvirke den bioanalytiske metode og/eller resultatet. Tilpas venligst bioanalyse og biomarkører og antistofopdagelses- og assayteknologi.

Spørgsmål vedrørende citratbuffer og hæmatokritværdi henviser vi til [vetes@lundbeck.com](mailto:vetes@lundbeck.com)