

Procédure Normalisée de Fonctionnement

TITRE : IMPLANTATION D'EMBRYONS DANS UNE SOURIS RECEVEUSE	NUMÉRO : MI-5
DESTINATAIRES : Plateforme de transgénèse de l'UQAM	VERSION 1 : 15.01.2015 VERSION 4 : 2.12.2019
ÉMISE PAR : Normand Lapierre et Manon St-Germain CORRIGÉE : Manon St-Germain, directrice et vétérinaire	CIPA : 20.01.2020
APPROUVÉE PAR : Manon St-Germain, directrice et vétérinaire	DATE : 20.10.2015
BUT : Implanter des embryons micro-injectés dans une souris receveuse.	

MATÉRIEL :

- Appareil à anesthésie, tubulure et chambre d'induction
- Isoflurane
- Ciseaux iris
- 2 micro-pinces à tissus
- 2 pinces Dumont #5
- Porte-aiguille
- Binoculaire
- Illuminateur
- Petit rasoir électrique
- Ruban adhésif Transpore® 3M
- Embryons micro-injectés
- Dispositif d'aspiration d'embryons et micropipette
- Champ chirurgicale jetable
- Suture PDS II 5/0 monofilament RB-1
- Agrafeuse pour agrafes 7mm
- Agrafes 7mm pour souris
- Gazes
- Saline
- Seringues 1ml
- Aiguilles 26 et 30G
- Metacam®
- Teargel®
- Alcool, proviodine, chlorexidine

SANTÉ ET SÉCURITÉ :

- Le port du sarrau et des gants est obligatoire.
- Se référer aux F.D.S. disponibles dans le bureau SB-M415 pour connaître les risques liés aux produits chimiques.
- En cas de déversement de produits chimiques, se référer aux fiches d'urgence affichées près des téléphones dans le SB-M472.

GÉNÉRALITÉS :

- Les procédures se déroulent au local SB-M472 de l'animalerie du SB.

PROCÉDURES :**A. Femelles pseudogestantes**

1. Le même jour où les superovultrices sont mises en accouplement (voir P.N.F. **MI-3 section A. Super ovulation**), mettre une vingtaine de femelles CD-1 de 6 semaines en accouplement avec des mâles vasectomisés dans un ratio 1:1. Voir P.N.F. **MI-6.VASECTOMIE DE SOURIS** pour connaître la procédure de vasectomie.
2. Avant 8h00 le lendemain, vérifier la présence de bouchons copulatoires sur les femelles accouplées.
3. Mettre les femelles pseudogestantes dans une cage (1/cage). Seules les femelles avec la présence d'un bouchon copulatoires sont utilisées pour l'implantation des embryons micro-injectés. Les autres femelles sont remises dans leur cage initiale et pourront être utilisées pour une séance ultérieure.

B. Implantation des embryons micro-injectés

1. Administrer du Metacam®, SC à 1mg/kg STAT, à chacune des souris pseudogestantes.
2. Préparer tout le matériel nécessaire pour la réimplantation sur un champ chirurgical propre.
3. Prendre une des souris pseudogestante, la peser (inscrire le poids sur la carte de cage ainsi que la date) et la mettre dans la cage d'induction.
4. Anesthésier la souris à l'isoflurane-O₂. Durant toute la procédure la souris est maintenue sous anesthésie en déplaçant au besoin la tubulure.
5. Sur un plan de travail non chirurgical, raser le flanc droit de la femelle en partant des hanches jusqu'au milieu du dos. Il faut former un rectangle d'environ 4cm X 3cm.
6. Appliquer du Teargel® sur les yeux de la souris.
7. Nettoyer la zone rasée avec une gaze imbibée d'alcool ou de la chlorexidine pour enlever les poils superflus.
8. Placer la souris en décubitus ventral sur la surface de travail sous le binoculaire.
9. Charger une micropipette pour la réimplantation comme suit :
 - a. Milieu
 - b. Bulle d'air
 - c. Milieu
 - d. Bulle d'air
 - e. Milieu et embryons (maximum 25). S'assurer que le dernier embryon soit protégé par du milieu.



10. Désinfecter la zone rasée avec une gaze imbibée de proviodine.
11. Inciser la peau du flanc sur 1.5 cm avec des ciseaux à iris.
12. Repérer l'ovaire et pincer en soulevant la paroi musculaire vis-à-vis l'ovaire.
13. Inciser sur 1 cm la paroi musculaire à l'aide d'un ciseau à iris.
14. Extirper l'ovaire, l'oviducte et une partie de la corne utérine en tirant sur la masse graisseuse entourant ces structures.
ATTENTION, manipuler le moins possible les organes reproducteurs pour ne pas les abîmer, cela pourrait compromettre l'implantation des embryons.
15. Au besoin, déposer, sur un coton-tige légèrement humidifié de saline, l'ovaire de manière à voir l'oviducte.
16. Repérer l'ampoule de l'oviducte.
17. Avec les pinces Dumont, maintenir délicatement l'oviducte et effectuer une ouverture dans l'ampoule avec une aiguille 30G (le biseau de l'aiguille doit être vers le haut).
18. Introduire la micropipette dans l'ouverture faite par l'aiguille.
19. Souffler dans le dispositif d'aspiration d'embryons pour implanter les embryons dans l'oviducte, la réussite de cette étape est confirmée en observant les bulles d'air, chargées à l'étape 9 de cette P.N.F., dans l'oviducte.
20. Retirer la micropipette.
21. Remettre la corne utérine, l'ovaire et l'oviducte dans la cavité abdominale.
22. Fermer le plan musculaire à l'aide du fil de suture PDS II 5/0. 1 ou 2 points devraient être suffisants.
23. Fermer le plan cutané avec des agrafes chirurgicales 7 mm pour souris. 2 ou 3 agrafes devraient être suffisantes.
24. Arrêter l'appareil à anesthésie et mettre la souris dans une cage propre sous une lampe chauffante (à environ 1 mètre).
25. Mettre des croquettes de nourriture dans le fond de la cage et une poignée de fruits et légumes séchés certifiés.
26. Observer la souris jusqu'à son réveil complet.
27. Effectuer un suivi quotidien de l'état de santé des souris implantées pour les prochaines 72 heures.
28. Compléter le **registre de projet de la plateforme**.
29. Peser les souris réimplantées après 10 et 14 jours. Inscrire le poids et la date sur la carte de cage. Les femelles, où l'implantation utérines des embryons aura réussie, présenteront une prise de poids constante et significative entre le jour 0, 10 et 14.

30. Les souris pseudogestantes non implantées pourront être utilisées à nouveau 2 semaines suivant l'observation d'un bouchon copulatoire.