

Procédure Normalisée de Fonctionnement

TITRE : IMPLANTATION DE CELLULES TUMORALES VIA LA VEINE PORTE DE LA SOURIS.	NUMÉRO : CHX.10
DESTINATAIRES : Personnel du Service des animaleries et usagers	VERSION 1 : 20.01.2021
ÉMISE PAR : Natacha Duquette, T.S.A. CORRIGÉE : Manon St-Germain, vétérinaire et directrice	CIPA : 9.04.2021
APPROUVÉE PAR : Manon St-Germain, vétérinaire et directrice	DATE : 30.01.2021
BUTS : Décrire les différentes étapes pour l'implantation de cellules tumorales par la veine porte chez la souris.	

MATÉRIEL :

- Souris
- Appareil à anesthésie, tubulure et chambre d'induction
- Isoflurane
- Tapis chauffant
- Crème dépilatoire
- Seringue + aiguille 27G 1/2 (1/souris)
- Provioline 1%
- Onguent lubrifiant ophtalmique (Teargel®)
- Buprénorphine
- Carprofène
- Stéréo microscope
- Champ chirurgical
- Lame de scalpel
- Gazes de coton stérile
- Ciseaux à bouts pointus
- 2 pinces extra fines
- Saline 0,9% stérile
- Éponge hémostatique (ex : Gelfoam®)
- Coton tige
- Seringue en verre Hamilton de 25ul + aiguille 32G
- Tampon d'alcool stérile
- Fil de suture Vicryl 5.0
- Pince pour pose de boucles d'oreilles
- Étiquette d'identification, National Band and Tag Co #1005-1
- Solution Prevail
- Clips 7mm et applicateur de clips
- Stérilisateur à billes de verre

SANTÉ ET SÉCURITÉ :

- Le port des gants, d'un sarrau et du masque N95 est obligatoire.
- L'effet foeto-toxique de l'Isoflurane n'a pas été prouvé. Les femmes enceintes devraient consulter leur médecin avant de travailler avec cet anesthésique.
- Se référer aux F.D.S. disponibles dans le SB-M415 pour connaître les risques reliés à la manipulation de l'Isoflurane et les autres produits.

- En cas de déversement de produits chimiques, se référer aux fiches d'urgence affichées près des téléphones dans le SB-M415, SB-M426, SB-M450 et SB-M470.
- Disposer des aiguilles et autres déchets biomédicaux comme prescrit dans la P.N.F. **T-9. DISPOSITION DES CARCASSES ET AUTRES DÉCHETS BIOMÉDICAUX.**

PROCÉDURES :

1. 24 heures avant la chirurgie prévue, traiter les souris avec 5 mg/kg de Carprofène SC avec une seringue 1ml + aiguille 27G.
2. 1 heure avant la chirurgie, traiter les souris avec 0,1 mg/kg de buprénorphine SC avec une seringue 1ml + aiguille 27G.
3. Induire l'anesthésie dans la boîte d'induction avec l'isoflurane (3 %) et O₂ (1L/min).
4. Peser la souris une fois la souris endormie.
5. Déposer l'animal sur un tapis chauffant et placer son museau au sein du masque anesthésique puis baisser la concentration d'isoflurane à 1,5-2% et diminuer le débit O₂ à 0,5 L/min.
6. Appliquer l'onguent lubrifiant ophtalmique, Teargel®, sur la cornée de l'animal.
7. Vérifier le réflexe de retrait en pinçant la région interdigitée d'une des pattes arrière. S'il y a réflexe de retrait, augmenter l'isoflurane de 0,5% et attendre 1-2 minute avant de vérifier à nouveau.
8. Identifier l'animal avec une étiquette d'oreille comportant un code numérique unique.
9. Placer l'animal en décubitus dorsal.
10. Enlever les poils sur le côté gauche du deuxième espace intercostal jusqu'à la 4e glande mammaire inguinale de la souris en utilisant une crème dépilatoire. Voir la PNF T-30 Utilisation d'une crème dépilatoire chez les rongeurs. Cette étape peut être effectuée 1 à 2 jours à l'avance pour gagner du temps si de nombreuses chirurgies sont prévues.
11. Désinfecter la région épilée avec une compresse stérile imbibée de solution de Proviodyne 1%.
12. Déposer un champ chirurgical stérile sur l'animal.
13. À l'aide d'une lame de scalpel, faire une incision d'environ 2 cm dans la peau entre les plans médians et sagittaux dans la région rasée de la souris, en commençant en dessous des côtes et se terminant au-dessus de la quatrième glande mammaire inguinale.
14. À l'aide de ciseaux et de pinces, faire une incision similaire dans le péritoine en prenant bien soin de ne pas couper le foie, les intestins ou le diaphragme.

15. Brasser la suspension de cellules tumorales (1×10^6 cellules/ml) avant de les aspirer avec une seringue. Les cellules ont tendance à se déposer au fond du tube alors il est important de les remettre en suspension dans le véhicule (PBS : Phosphate Buffered Saline).
16. Aspirer le volume nécessaire de la suspension de cellules dans une seringue Hamilton de 25ul munie d'une aiguille de calibre 32G.
17. Essuyer l'extérieur de l'aiguille avec un tampon d'alcool stérile pour éliminer les cellules tumorales externes.
18. Placer une compresse 10 x 10 cm imbibée de solution saline stérile sur le côté gauche de la souris, où l'incision a été faite. Utiliser un coton-tige stérile pour tirer soigneusement les gros et petits intestins et les placer sur la compresse, jusqu'à ce que la veine porte soit visualisée. Les envelopper avec la compresse imbibée de saline de façon à ce que les organes n'entrent pas en contact avec la peau environnante ou la zone chirurgicale et ainsi maintenir l'humidité interne et la stérilité.
19. À cette étape, utiliser un stéréo microscope; insérer l'aiguille chargée de cellules tumorales 3-5 mm dans la veine porte environ 10 mm sous le foie à un angle d'environ 5° biseau vers le haut. Injecter lentement le volume de la solution contenant les cellules tumorales.
20. Retirer l'aiguille et appuyer avec un coton-tige sur le site d'injection et s'assurer qu'il n'y a pas de fuite de cellules cancéreuses à l'extérieur de la veine porte. Placer un morceau d'éponge hémostatique (Gelfoam®) sur le site d'injection de la veine afin d'arrêter le saignement.
21. Maintenir le Gelfoam® au site d'injection avec une légère pression pendant 5 minutes. Retirer l'éponge doucement, afin de s'assurer que le saignement est arrêté. S'il y a un saignement, placer un nouveau morceau de Gelfoam® sur le site et maintenir pendant 5 minutes supplémentaires. Retirer l'éponge. Au besoin, utiliser de la saline si l'éponge adhère aux tissus environnants pour faire tremper et soulever l'éponge.
22. Replacer les organes internes dans la cavité abdominale.
23. Refermer le plan musculaire avec des points de suture simples en utilisant du fil de suture Vicryl 5.0.
24. Refermer la peau avec des clips 7 mm.
25. Arrêter l'anesthésie en retirant la souris du masque et l'observer jusqu'à la reprise de son comportement normal (manger, marcher, boire) avant de la remettre dans sa cage.
26. Laver les instruments à l'eau savonneuse et les rincer à l'eau claire entre chaque animal, puis les sécher avec des compresses.
27. Déposer les instruments dans le stérilisateur à billes de verre pendant 15-20 secondes.
28. Laisser refroidir les instruments avant de les réutiliser afin d'éviter des brûlures.

Références :

Goddard, E.T., Fischer, J., Schedin, P. (2016). A portal vein injection model to study liver metastasis of breast cancer. J. Vis. Expo (118), e54903, <https://doi.org/10.3791/54903>