

**Procédure Normalisée de Fonctionnement**

<b>TITRE :</b> IMPLANTATION SOUS-CUTANÉE DE TUMEURS PDX HUMAINES CHEZ LA SOURIS IMMUNODÉFICIENTE	<b>NUMÉRO :</b> CHX-11
<b>DESTINATAIRES :</b> Personnel du Service des animaleries et usagers	<b>Version 1 :</b> 19.05.2021
<b>ÉMISE PAR :</b> Jean-Christophe Currie, directeur scientifique <b>CORRIGÉE :</b> Normand Lapierre, T.S.A.	<b>CIPA :</b> 16.06.2021
<b>APPROUVÉE PAR :</b> Normand Lapierre, T.S.A.	<b>DATE :</b> 19.05.2021
<b>BUT :</b> Décrire les étapes de l'implantation sous-cutanée de tumeurs PDX humaines chez la souris immunodéficientes	

**MATÉRIEL :**

- Souris
- Tumeur PDX (Jackson Laboratories)
- Milieux de culture RPMI (Wisent #350-007)
- Penicillin/Streptomycin 1000X (Wisent #450-201-EL)
- Appareil à anesthésie, tubulure et chambre d'induction
- Isoflurane
- Seringue + aiguille 26G (1/souris)
- Providine 1%
- Teargel®
- Clip chirurgicale 7mm
- Instruments chirurgicaux (ciseaux iris, pince droite fine dentelée, forceps)
- Gazes de coton stérile
- Alcool 70%
- Solution de Virkon® à 1%
- Pince pour pose de boucles d'oreilles
- Boucles d'oreilles National Band and Tag Co #1005-1 MONEL
- Champs chirurgicaux stériles
- Tapis chauffant
- Hotte stérile
- Pétri stérile
- Analgésique Rimadyl® (Carprofène, anti-inflammatoire non stéroïdien)

**SANTÉ ET SÉCURITÉ :**

- Il est obligatoire de porter un sarrau qui recouvre entièrement les bras pour éviter les égratignures pouvant être provoquées par les griffes du lapin et de porter un masque N95, puisque les protéines urinaires des rongeurs et des lapins se retrouvant dans la poussière de litière sont hautement volatiles et allergènes. Le port des gants 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 liés 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.
- L'utilisation d'une lignée cellulaire doit avoir été approuvée par le Comité institutionnel des risques biologiques de l'UQAM (CIRB).

- Disposer des aiguilles et autres déchets biomédicaux tel que prescrit dans la P.N.F. **T-9.DISPOSITION DES CARCASSES ET AUTRES DÉCHETS BIOMÉDICAUX.**

**PROCÉDURES :**

L'ensemble des interventions chirurgicales et l'implantation des tumeurs PDX sont faites sous une enceinte de sécurité biologique

1. Stériliser tout le matériel chirurgical à la vapeur.
2. Anesthésier la souris dans la boîte d'induction avec l'Isoflurane (3-5%) et O<sub>2</sub> (1L/min).
3. Une fois la souris endormie, peser et identifier l'animal avec une boucle d'oreille comportant un code numérique unique.
4. La déposer sur un tapis chauffant et placer son museau au sein du masque anesthésique puis baisser la concentration d'Isoflurane à 1,5-2% (sans changer le débit O<sub>2</sub>).
5. Appliquer un onguent lubrifiant ophtalmique sur les yeux de l'animal.
6. Vérifier le réflexe de retrait en pinçant une des pattes arrière entre les orteils. Si l'animal retire la patte, augmenter l'Isoflurane de 0,5% et attendre 1-2 minutes avant de vérifier de nouveau le réflexe de retrait.
7. S'il s'agit d'une implantation sur une souris à poil, appliquer la **P.N.F. T-30** avant de passer à l'étape suivante.
8. Désinfecter le site d'incision avec une compresse stérile imbibée de solution proviodine 1%.
9. Administrer de 0,2 à 0,5 ml/10g du poids de la souris une solution isotonique (saline) en sous-cutanée (aiguille 26G).
10. Faire une petite incision horizontale (5 à 10mm) à l'aide d'un ciseau chirurgical sur le flanc de la souris.
11. Insérer le bout du ciseau dans l'incision au niveau du flanc puis ouvrir le ciseau pour créer une pochette en sous-cutanée.
12. Insérer un morceau de tumeur PDX de 1-2 mm<sup>3</sup> dans la pochette sous-cutanée au niveau du flanc à l'aide d'une pince et de forceps. (Tous les morceaux de tumeurs PDX sont submergés de milieu de culture RPMI contenant 1X de Penicillin/Streptomycin dans un pétri stérile pour la viabilité du tissu)
13. Fermer le site incisé avec des clips chirurgicales stériles.
14. Administrer l'analgésique Carprofène 5 mg/kg en sous-cutanée. Administrer une seconde dose 24h post-chirurgie.
15. Terminer l'anesthésie en retirant la souris du masque et observer jusqu'au réveil complet de l'animal.
16. Laver à l'eau savonneuse et rincer sous l'eau les instruments entre chaque animal, puis les sécher avec des compresses.

17. Déposer les instruments dans le stérilisateur à billes de verre pendant 15-20 secondes.

18. Laisser refroidir les instruments avant de les réutiliser afin d'éviter les brûlures.

### **SUIVI DE LA CROISSANCE DES TUMEURS**

#### **Mesures des tumeurs:**

- Mesurer les tumeurs à l'aide d'un étrier digital avec une précision de 2 décimales.
- Commencer la prise de mesure des tumeurs 4 jours après l'implantation.
- Mesurer les tumeurs 2 fois/semaine jusqu'au début du traitement des souris.
- Mesurer les tumeurs 3 fois/semaine une fois le traitement débute.
- Utiliser la formule suivante pour calculer le volume des tumeurs (longueur x largeur<sup>2</sup>) X 0.52.
- Sacrifier les souris lorsque les tumeurs atteignent 2000mm<sup>3</sup> ou lorsque qu'un des points limites décrit dans la P.N.F. **A-25** est atteint.

#### **Traitement:**

- Débuter les traitements lorsque le volume moyen des tumeurs atteint 200-300mm<sup>3</sup> (cela dépend du type de tumeurs utilisées).
- Randomiser les souris en groupe où  $n = 5$  à  $8$ .