

TITRE : IMPLANTATION ORTHOTOPIQUE DE CELLULES TUMORALES DANS LE COLON DE LA SOURIS	NUMÉRO : CHX-9
DESTINATAIRES : Personnel du Service des animaleries et usagers	Version 1 : 20.01.2021
ÉMISE PAR : Natacha Duquette et Angèle Sansoucy, T.S.A. CORRIGÉE : Manon St-Germain, directrice et vétérinaire	CIPA : 9.04.2021
APPROUVÉE PAR : Manon St-Germain, directrice et vétérinaire	DATE : 30.01.2021
BUT : Décrire les différentes étapes pour l'implantation orthotopique de cellules tumorales dans le colon chez la souris.	

MATÉRIEL :

- Souris
- Appareil à anesthésie, tubulure et chambre d'induction – Isoflurane
- Tapis chauffant
- Seringue + aiguille 30G 1/2 (1/souris)
- Proviodyne 1%
- Onguent lubrifiant ophtalmique (Teargel®)
- Gazes de coton stérile
- Stéréo microscope
- Écarteur (de type Mini-Colibri)
- Stérilisateur à billes de verre
- Saline 0,9% stérile
- Crème Emla (Lidocaïne 2.5% / Prilocaine 2.5%)
- Coton tige
- Pince pour pose de boucles d'oreilles
- Étiquette d'identification, National Band and Tag Co #1005-1
- Solution Prevail

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. Induire la souris dans la boîte d'induction avec l'Isoflurane (3 %) et O₂ (1L/min).
2. Une fois la souris endormie, appliquer la crème Emla sur la muqueuse externe de l'anus ainsi que sur le pavillon d'oreille où sera posée l'étiquette d'identification, avec un coton-tige. Attendre 10 min et essuyer la crème avec un coton-tige propre.
3. Peser la souris.
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% et diminuer le débit O₂ à 0,5 L/min.
5. Appliquer l'onguent lubrifiant ophtalmique, Teargel[®], sur la cornée de l'animal.
6. 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.
7. Identifier l'animal avec une étiquette d'oreille comportant un code numérique unique.
8. Nettoyer et aseptiser la région au niveau de l'anus et ensuite y placer l'écarteur de type mini-colibri ou des pinces courbes. Ceci permettra de dilater et d'ouvrir l'anus afin de permettre d'injecter les cellules tumorales dans le rectum.
9. Brasser la suspension de cellules tumorales (1 X 10⁶ cellules/ml) avant de les aspirer avec la 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).
10. Aspirer le volume nécessaire de la suspension de cellules dans une seringue 1mL munie d'une aiguille 30G 1/2.
11. À l'aide du stéréo microscope, injecter doucement les cellules tumorales dans la muqueuse du rectum.
12. Retirer l'aiguille et appuyer avec un coton-tige sur le site d'injection quelques secondes afin de s'assurer qu'il n'y a pas de fuite et de saignement.
13. 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.

14. Observer la souris une heure post réveil et ensuite deux fois par jour les trois jours suivants pour détecter toutes anomalies.
15. Laver les instruments à l'eau savonneuse et les rincer à l'eau claire entre chaque animal, puis les sécher avec des compresses.
16. Déposer les instruments dans le stérilisateur à billes de verre pendant 15-20 secondes.
17. Laisser refroidir les instruments avant de les réutiliser afin d'éviter des brûlures.

Références :

Donigan, M., Norcross, L., Aversa, J. Et al. *Novel murine model for colon cancer: Non-operative trans-anal rectal injection*. Journal of surgical research 154, 299-303 (2009), <https://doi.org/10.1016/j.jss.2008.05.028>

Donigan, M., Loh, B.D., Norcross, L. Et al. *A metastatic colon cancer model using nonoperative transanal rectal injection*. Sur Endosc (2010) 24:642-647, <https://doi.org/10.1007/s00464-009-0650-9>