



UNIVERSITÉ
LAVAL

Direction des services vétérinaires

Procédure normalisée de fonctionnement

Objet : Prélèvements d'ovocytes chez <i>Xenopus laevis</i>	Numéro : C-9
Portée : Ceci est une directive de la Direction des services vétérinaires à l'intention du personnel des animaleries de l'Université Laval (campus et centres de recherche affiliés).	
Préparée par Daphnée Veilleux-Lemieux <i>Vétérinaire responsable, Direction des services vétérinaires</i>	Date : 25 janvier 2016
Modifiée par Annie-Christine Fillion <i>Technicienne en santé animale conformité, Direction des services vétérinaires</i>	Date : 23 novembre 2022
Révisée par Anne-Marie Catudal <i>Vétérinaire clinicienne, Direction des services vétérinaires</i>	Date : 20 février 2023
But : Décrire la procédure de prélèvements multiples d'ovocytes chez <i>Xenopus laevis</i> .	Version 2

Généralités

- Seulement des animaux adultes et en bonne santé doivent être utilisés pour la récolte d'ovocytes.
- Il est fortement recommandé, lorsque le protocole le permet, de collecter manuellement les œufs limitant donc les interventions à des manipulations non traumatiques.
- Lorsqu'aucune chirurgie n'est effectuée, la femelle peut être utilisée autant que son état de santé le permet. Un suivi individuel des manipulations, qu'elles soient ou non chirurgicales, est obligatoire dans Nagano ou dans les dossiers papier.
- Les chirurgies doivent se dérouler dans un endroit désencombré, facile à désinfecter et où il y a peu de circulation.
- Les instruments chirurgicaux utilisés doivent être adaptés à la chirurgie, en bon état et stériles.
- Les chirurgies multiples sur un même animal au cours de sa vie ne sont pas recommandées. Cependant, la qualité variable des œufs lors des prélèvements peut justifier les prélèvements multiples.
- De courtes incisions, le non-déplacement d'organes, ainsi que le rétablissement rapide des animaux sont des obligations pour les interventions subséquentes.

Procédures

Prélèvement manuel d'œufs

Les œufs non fertilisés peuvent être prélevés de manière manuelle chez les femelles ayant été préalablement injectées avec l'hormone chorionique gonadotrope humaine (HCG). Les femelles doivent avoir une période de repos de 3 à 6 mois entre chaque manipulation.

- Injecter 500 IU d'HCG dans le sac lymphatique dorsal de l'animal.
- 12 heures après l'injection, laisser l'animal libérer les œufs ou presser délicatement son abdomen afin de faciliter la libération.

Chirurgie de collecte d'ovocytes

Un maximum de 6 chirurgies est possible sur un même animal, la 6^e étant terminale. Une période de repos de minimum 10 semaines doit être respectée entre les interventions, selon le poids et l'état de santé de l'animal. Les lobes doivent être alternés, ainsi la localisation de l'incision (gauche ou droite **de l'animal**) doit être inscrite au dossier.

Préparation de l'animal

- Faire un examen physique de l'animal et noter son poids afin de ne pas surdoser l'animal.
- Anesthésier l'animal conformément à la PNF A-7 Anesthésie et analgésie des amphibiens.

Préparation du chirurgien

- Se laver les mains et revêtir l'EPI :
 - Bonnet;
 - Masque de procédure ou respirateur N95;
 - Jaquette propre ou jetable;
 - Gants sans latex, non poudrés et idéalement non texturés.

Préparation de la zone de chirurgie

- Désinfecter la surface de travail et installer un piqué propre.
- Prévoir un champ stérile pour déposer les instruments préalablement stérilisés à l'autoclave.
- Disposer le matériel de chirurgie et les instruments sur le piqué et le champ stérile en s'assurant de ne pas les contaminer.

- Préparer une anesthésie d'appoint à portée de main en cas de besoin :
 - Une seringue/pipette de 5-10 ml remplie d'eau anesthésiante;
 - Des gazes non stériles imbibées d'eau anesthésiante.

Chirurgie

- Vérifier la profondeur anesthésique de l'animal et le déplacer dans la zone de chirurgie.
 - Administrer à l'animal l'analgésique systémique prévu selon son poids.
 - Conserver la peau de l'animal humide durant la procédure chirurgicale. Mouiller la surface sur laquelle l'animal est déposé avec de l'eau du bassin d'hébergement et déposer une gaze mouillée d'eau anesthésiante sur la tête tout le long de la procédure.
 - Nettoyer le site d'incision avec une gaze stérile imbibée d'eau ou de saline stérile. Ne pas appliquer de solution contenant de l'alcool ou de la chlorhexidine, car l'animal l'absorbera de manière systémique.
 - Déposer sur l'animal une gaze stérile imbibée d'eau ou de saline stérile découpée en son centre comme champ opératoire.
 - Respecter en tout temps les techniques d'asepsie. Saisir les instruments par le manche uniquement et ne pas toucher le site chirurgical ou le fil de suture avec ses mains.
 - Ne pas utiliser d'instruments émoussés, brisés ou rouillés.
 - Avec l'animal en décubitus dorsal, effectuer une incision cutanée de 1 cm sur l'abdomen, en évitant la ligne médiane. Effectuer ensuite une incision musculaire de 1 cm pour avoir accès aux ovocytes.
 - Extérioriser délicatement les ovocytes et prélever la quantité désirée. Si requis, effectuer une suture de l'ovaire à l'aide de matériel absorbable pour éviter les saignements.
 - Replacer les ovocytes résiduels dans l'abdomen et éviter de laisser des ovocytes sous la peau. Bien nettoyer la peau avec une gaze stérile. Au besoin, rincer la paroi musculaire avec de la saline stérile ou retirer les ovocytes à l'aide d'une pince.
- Note : Les ovocytes laissés entre le muscle et la peau peuvent causer des abcès.
- Fermer la paroi musculaire et la peau en deux plans distincts à l'aide de sutures discontinues absorbables de type polydioxanone (voir PNF C-10 Matériel de suture). Après la suture musculaire, et tout juste avant la suture cutanée, administrer un bloc local en fonction du poids de départ de l'animal.
 - Peser l'animal à la suite du retrait des œufs et inscrire le poids postopératoire dans son dossier.

- Pour s’assurer d’un réveil rapide de l’animal, rincer celui-ci avec de l’eau du bassin. Mettre l’animal dans un bassin de récupération contenant de l’eau du bassin d’hébergement. Celui-ci doit être incliné pour que les narines soient hors de l’eau en tout temps.
- Lorsque l’animal est bien réveillé, le remettre dans son bassin d’hébergement. Si des problèmes survenaient en cours de chirurgie ou si la plaie saigne, héberger l’animal individuellement pour 24 à 48 h afin d’observer son comportement et la plaie.
- Poursuivre la surveillance pour un minimum de 4 semaines ou jusqu’à la guérison de la plaie (poids, photo de la plaie et note au dossier selon la fréquence prescrite par le vétérinaire).
- Prévoir l’euthanasie de l’animal s’il rencontre un des points limites suivants :
 - Hémorragie non contrôlée durant la chirurgie ou au réveil;
 - Ne donne pas d’œufs de bonne qualité ou en quantité insuffisante 3 chirurgies de suite;
 - Absence de reprise du poids ou perte de poids par rapport à la chirurgie précédente ou après 3 mois.

Références

Brown University, *IACUC Multiple Survival Surgeries for Oocyte Harvesting in Xenopus Frogs Policy*, 2010.

CCPA, *Lignes directrices du CCPA : les amphibiens*, 2021.

McGill, *SOP # 204 - Xenopus egg and oocyte collection*, 2021.

NIH, *Guidelines for Egg and Oocyte Harvesting in Xenopus laevis*, 2022.

UBC AnimalCare Guidelines, SOP Surgical Oocyte Collection from Xenopus Laevis <https://animalcare.ubc.ca/sites/default/files/documents/UBC%20Animal%20Care%20Guidelines-SOP%20Surgical%20Oocyte%20Collection%20from%20Xenopus%20laevis.pdf>

Mises à jour de la PNF		
Version 2	20 février 2023	Révision générale et précisions dans la portion chirurgie.