



UNIVERSITÉ
LAVAL

Comité universitaire de protection
des animaux

Procédure normalisée de fonctionnement

Objet : Modèle de développement de la maladie de parkinson par administration de 6-OHDA chez les rongeurs	Numéro : M-4
Portée : Ceci est une directive de la Direction des services vétérinaires à l'intention des utilisateurs et 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 : 27 août 2018
Modifiée par Geneviève Fortin Simard <i>Vétérinaire clinicienne, Direction des services vétérinaires</i>	Date : 23 juillet 2020
Révisée par Marie-Josée Wallman et Véronique Rioux <i>Professionnelles de recherche, équipe Dr Martin Parent et Dr Martin Lévesque</i>	Date : 28 juillet 2020
But : Décrire les procédures pour le modèle de développement de la maladie de parkinson par administration de 6-OHDA chez la souris.	Version 2

Généralités

- Ce modèle animal a été développé afin de mimer certains symptômes moteurs de la maladie de Parkinson.
- Le maintien de la température corporelle de l'animal et le suivi post-opératoire sont essentiels pour la survie de l'animal.
- La lésion peut être induite au niveau du striatum, de la substance noire ou du faisceau prosencéphalique médian. Les zones visées induisent des signes cliniques plus ou moins sévères chez les animaux.

Procédure

Préparation de l'animal et chirurgie

- Offrir du DietGel Boost® (pour les animaux injectés au niveau du faisceau prosencéphalique médian) et autres enrichissements alimentaires à l'animal 24 heures avant la chirurgie.
- Peser l'animal.
- Administrer de la buprénorphine (0,05 mg/kg) par voie sous-cutanée et injecter de la désipramine (12,5 mg/kg) (inhibiteur sélectif de la recapture de noradrénaline) par voie intrapéritonéale 20 minutes avant l'injection de 6-OHDA.

- Anesthésier l'animal à l'isoflurane conformément à la PNF A-1 Analgésie et anesthésie des rongeurs.
- Installer l'animal en décubitus ventral sur un tapis chauffant ou une source de chaleur (tapis à eau circulante, Deltaphase®, tapis à infrarouges « far infrared » ou plaque chauffante électrique avec thermomètre rectal pour ajuster précisément la chaleur).
- Préparer l'animal conformément à la PNF C-3 Chirurgie stéréotaxique chez les rongeurs. Raser le crâne de l'animal et faire un bloc local du site de l'incision en administrant un mélange de lidocaïne-bupivacaïne selon les concentrations en vigueur. Le volume administré doit être suffisant pour couvrir la zone d'incision sans toutefois causer une distorsion des tissus (environ 0,05 ml pour une incision de 1 cm). Administrer 0,03ml du mélange de lidocaïne-bupivacaïne dans chaque oreille.
- Préparer le site chirurgical selon la PNF C-1 Chirurgie aseptique chez les rongeurs.

Chirurgie

- Avant de commencer, vérifier la profondeur de l'anesthésie en pinçant un orteil pour vérifier l'absence du réflexe de retrait.
- Changer de gants et les passer à l'alcool ou revêtir des gants stériles.
- Placer un champ opératoire stérile sur l'animal tout en laissant la tête dégagée. Les instruments doivent donc être placés sur le champ afin de les garder stériles tout au long de la procédure.
- Inciser de façon rostro-caudale la peau et le fascia couvrant le crâne avec un scalpel et les rétracter à l'aide d'un écarteur (ex. :« mouse eyelid retractor » pour les souris).

Note : Si des ciseaux sont utilisés, des ciseaux droits sont préférables.

- Selon le site d'injection, ou si un implant doit être fixé au crâne, écarter le fascia de l'os à l'aide du scalpel et d'un coton-tige. Contrôler les saignements par compression/friction avec un coton-tige ou application de LRS.
- À l'aide d'un porte-aiguille stérile, placer la mèche stérile dans la perceuse.
- Vérifier que le crâne est bien au niveau, en comparant la hauteur du bregma et du lambda.
- Localiser le bregma.
- Effectuer la craniotomie aux coordonnées stéréotaxiques appropriées en faisant attention de ne pas percer accidentellement la dure-mère.

Note : Il est recommandé de marquer la position de la craniotomie à l'aide d'un crayon stérile.

- Utiliser des cotons-tiges et du LRS pour arrêter les saignements. Au besoin, appliquer un gel hémostatique (ex. Gelfoam®).

- Retirer les débris osseux de la craniotomie à l'aide de pinces et/ou de cotons-tiges imbibés de saline ou LRS. Si nécessaire, percer la dure-mère sans endommager le cerveau à l'aide d'une aiguille 25G.
- Descendre lentement l'aiguille d'injection aux coordonnées appropriées (vitesse recommandée : 1 mm/minute).
- Attendre de 3 à 5 minutes avant de faire l'injection.
- Effectuer l'injection de 6-OHDA en utilisant une vitesse de 2 nl/seconde pendant 2 minutes pour un volume total de 250 nl ou selon les besoins du site d'injection.
- Attendre de 3 à 5 minutes afin de permettre la diffusion du produit et retirer lentement l'aiguille.
- Rincer le site d'incision avec un peu de saline ou de LRS stérile.
- Fermer le site chirurgical de façon aseptique en installant un champ stérile tout autour afin de ne pas contaminer les sutures.

Note : Il est plus facile et sécuritaire de refermer la plaie une fois l'animal retiré du cadre stéréotaxique.

- Monitorer la température de l'animal afin que celle-ci demeure entre 36,5 et 37,5 °C.

Période post-opératoire immédiate (\leq 1 heure post-chirurgie)

- Avant le réveil de l'animal, couper la pointe des griffes des membres postérieurs avec un petit ciseau ou coupe-griffe.
- Transférer l'animal dans la zone de réveil.
- Administrer 1 ml de Lactate de Ringer USP tiède par voie sous-cutanée ainsi qu'un anti-inflammatoire non stéroïdien tel carprofen (20 mg/kg) ou meloxicam (1 mg/kg).
- Retourner l'animal dans sa cage lorsqu'il est en décubitus sternal et que sa respiration est constante.

Suivi de la condition – Injections au niveau du faisceau prosencéphalique médian ou de la substance noire

- Observer quotidiennement les animaux et effectuer le suivi tel que décrit dans le tableau 1. L'analgésie post-opératoire doit être poursuivie pour 48 heures (couverture analgésique majeure).
- Monitorer la température de l'animal afin que celle-ci demeure entre 36,5 et 37,5 °C jusqu'à ce que la perte de poids de l'animal soit inférieure à 10 % du poids initial. Mettre la moitié de la cage sur une source de chaleur si la température est inférieure à 36,5 °C.
- Peser les animaux quotidiennement jusqu'à ce que la perte de poids de l'animal soit inférieure à 20 % du poids initial. Par la suite, effectuer les pesées 3 fois par semaine jusqu'au retour au poids initial.
- Administrer 1 ml de Lactate de Ringer USP tiède par voie sous-cutanée une fois par jour ainsi que du dextrose 33 % une fois par jour. Il doit y avoir un minimum de 6 heures entre les deux injections. Les injections doivent se poursuivre jusqu'à ce que la perte de poids de l'animal soit inférieure à 20 % du poids initial.
- Offrir de la nourriture humide et du DietGel Boost® jusqu'à ce que la perte de poids de l'animal soit inférieure à 10 % du poids initial.
- Remplir le carton de suivi postopératoire et l'apposer sur la cage de l'animal ou des animaux.
- Examiner la plaie quotidiennement pour les 5 jours suivants et noter la présence de signes particuliers (écoulement, rougeur, enflure, etc.). Contacter un vétérinaire de la DSV lors de l'observation de ceux-ci.
- Retirer les agrafes ou les sutures cutanées 7 à 10 jours après la chirurgie.
- Euthanasier les animaux conformément à la **PNF ETH-10 et au tableau 1.**

Tableau 1 : Suivi en cas de perte de poids importante (sans atteindre aucun autre point limite)

Pourcentage de perte de poids par rapport au poids initial (%)	Suivi	Actions
< de 30 %	Suivi de poids quotidien	Continuer les traitements de support
Entre 30 et 34 %	Suivi de poids quotidien Calculer le nombre de jours entre le pic de perte de poids et le retour à moins de 20 % de perte du poids initial.	Continuer les traitements de support
35 %	Si l'animal commence à reprendre du poids en 24 h	Continuer les traitements de support
	Si l'animal continue à perdre du poids 24 h plus tard	Euthanasie
36 % et plus	-----	Euthanasie
Une fois le pic de perte de poids atteint, retour à moins de 20 % de perte de poids	Si 20 % atteint moins de 7 jours suivant le pic	Arrêter les injections de dextrose. Continuer une injection de saline 1x/jour jusqu'à un retour à moins de 10 % du poids initial.
	Si 20 % non atteint 7 jours après le pic	Euthanasie

Suivi de la condition – Injection unilatérale au niveau du striatum

- Observer quotidiennement les animaux et effectuer le suivi tel que décrit dans le tableau 2. L'analgésie postopératoire doit être poursuivie pour 24 heures (couverture analgésique modérée).
- Peser les animaux quotidiennement pour les 5 premiers jours, puis effectuer les pesées 3 fois par semaine jusqu'au retour au poids initial. Poursuivre la pesée quotidienne si la perte de poids est supérieure à 12% après 5 jours.
- Offrir de la nourriture humide pour les 5 premiers jours. Poursuivre si la perte de poids est supérieure à 12%.
- Remplir le carton de suivi postopératoire et l'apposer sur la cage de l'animal ou des animaux.
- Examiner la plaie quotidiennement pour les 5 jours suivants et noter la présence de signes particuliers (écoulement, rougeur, enflure, etc.). Contacter un vétérinaire de la DSV lors de l'observation de ceux-ci.

- Euthanasier les animaux conformément à la **PNF ETH-10 et au tableau 2.**

Tableau 2 : Suivi en cas de perte de poids (sans atteindre aucun autre point limite)

Pourcentage de perte de poids par rapport au poids initial (%)	Suivi	Actions
0 à 11,9 %	Suivi de poids quotidien pour les 5 premiers jours, puis 3x/semaine jusqu'à reprise du poids	Nourriture humide pour les 5 premiers jours
Entre 12 et 14,9 %	Suivi de poids quotidien	Nourriture humide et injection de LRS SID
Entre 15 et 19,9%	Suivi de poids quotidien	Nourriture humide, DietGel Boost® et injection de LRS SID et dextrose 33 %
20% et plus	État de chair > 2/5	Nourriture humide, DietGel Boost® et injection de LRS SID et dextrose 33 % SID (6 heures entre inj.)
	État de chair ≤ 2/5	Euthanasie

Références

Simola L. et al., The 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease, Neurotox Res. 2007 Apr;11(3-4):151-67.

Tieu K., A Guide to Neurotoxic Animal Models of Parkinson's Disease, Cold Spring Harb Perspect Med. 2011 Sep; 1(1): a009316.

Mises à jour de la PNF		
Version 2	28 juillet 2020	Modifications des sections Préparation de l'animal et chirurgie afin d'être conforme à la PNF C-3. Distinction du suivi de la condition en fonction du site d'injection. Ajout de la section « Suivi de la condition – Injection unilatérale au niveau du striatum ».