



Objet : Modèle d'induction de l'arthrite par injection de sérum K/BxN	Numéro : M-9
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 : Claudia Toulouse <i>Technicienne de recherche, équipe Pr Eric Boilard</i> Daphnée Veilleux-Lemieux <i>Vétérinaire responsable, Direction des services vétérinaires</i>	Date : 24 février 2023
Révisée par : CUPA	Date : 2 mai 2023
But : Décrire les procédures pour le modèle d'induction de l'arthrite par injection de sérum K/BxN.	Version 1

Généralités

- Ce modèle de polyarthrite a été développé afin d'étudier les mécanismes auto-immuns et inflammatoires de l'arthrite rhumatoïde.
- Il requiert le transfert de sérum K/BxN et contrairement aux autres modèles les plus utilisés, ne demande pas d'injection d'adjuvant ni d'endotoxine tel que le LPS.
- L'immunisation à base de sérum K/BxN provoque une polyarthrite à médiation immunitaire sévère.
- L'efficacité des lots de sérum varie significativement selon les conditions d'hébergement des souris productrices du sérum. Le volume de sérum K/BxN peut donc ensuite être ajusté selon la lignée et le génotype des souris utilisées, afin de limiter une inflammation excessive non nécessaire.
- L'arthrite dans le modèle K/BxN affecte uniquement les extrémités des articulations des membres antérieurs et postérieurs, notamment les orteils, doigts, chevilles et poignets, contrairement à d'autres modèles murins dans lesquels l'arthrite peut aussi affecter les genoux et les hanches.
- Les souris mâles développent une arthrite plus soutenue que les souris femelles.
- L'apparition et l'évolution des symptômes d'arthrite doivent être évalués quotidiennement.
- Les signes subtils d'arthrite sont détectés habituellement 2 jours après la première injection de sérum K/BxN.

- La rougeur n'est pas évaluée dans ce modèle.
- Les trois échelles utilisées pour quantifier l'arthrite ne sont pas cumulatives. L'échelle qui a le score le plus élevé est priorisée pour déterminer l'euthanasie de l'animal.

Procédures

Production des souris KRN NOD

- Croiser les souris KRN B6.Cg-Tg(TcraR28,TcrbR28)KRNDim et NOD/ShiLtJ. Les sourceaux développeront spontanément l'arthrite.
- Surveiller les souris issues du croisement à partir de l'âge de 8 semaines. Utiliser l'échelle de l'indice clinique (voir tableau 1).
- Euthanasier par ponction cardiaque sous anesthésie les souris qui auront à l'indice clinique un pointage entre 8 et 11 sur deux pattes et plus, ou de 3 sur une seule patte.

Production et évaluation du sérum K/BxN

- Produire le sérum à partir du sang récolté lors de l'euthanasie des souris KRN/NOD.
- Mélanger tous les échantillons de sérum des souris pour obtenir un seul lot.
- Effectuer l'évaluation du potentiel du sérum sur un nombre restreint de souris, soit de 3 à 5 souris C57Bl/6J.
- Administrer à la moitié des souris une dose maximale de 150 µl de sérum (injectée en IP aux jours 0 et 2 pour un total de 300 µl), tandis que l'autre moitié recevra une dose de 100 µl (injectée en IP aux jours 0 et 2 pour un total de 200 µl).
- Tester des doses plus faibles au besoin, car les titres d'anticorps générés sont tributaires des conditions d'hébergement dans lesquelles les souris évoluent.
- Utiliser la dose qui permettra de produire des résultats de recherche probants, tout en respectant les points limites du modèle.

Induction de l'arthrite

- Offrir de la nourriture humide à partir du jour 0.
- Peser l'animal quotidiennement du jour 0 au jour 7.
- Injecter par voie intrapéritonéale 150 µl de sérum K/BxN aux jours 0 et 2. Chacune des injections est administrée en deux sites : 75 µl du côté gauche et 75 µl du côté droit. Lorsque le volume de sérum à injecter est moindre, le sérum est alors dilué dans du PBS stérile pour obtenir un volume total de 150 µl.
- Observer les animaux quotidiennement pour les points limites.

- Euthanasier les animaux au jour 7 maximum.

Points limites scientifiques

Le terme « points limites scientifiques » décrit l'indicateur le plus précoce qui permet de réaliser les objectifs énoncés pour une activité scientifique et qui marque la fin de l'utilisation de l'animal dans la collecte de données.

Trois échelles sont utilisées pour quantifier l'arthrite :

1. Évaluation de l'indice clinique
2. Mesure de l'épaisseur des chevilles
3. Poids

Évaluation de l'indice clinique

Pour obtenir l'indice clinique, chaque membre (antérieurs et postérieurs) est évalué selon l'échelle du Tableau 1. Pour chacun des membres, les doigts/orteils, poignets/chevilles ainsi que la paume et le dessus de la patte sont examinés. Voir exemples des image 1 et image 2.

L'indice clinique est obtenu en additionnant le pointage des quatre membres. Un maximum de 12 est donné à cette échelle.

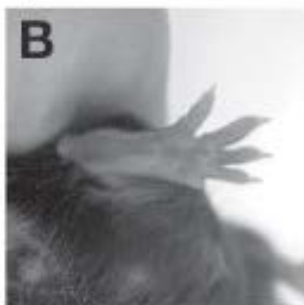
Tableau 1 : Échelle de l'indice clinique

Pointage	Caractéristiques
0	Normal : Aucune enflure observable
1	Enflure sur un ou plusieurs doigts/orteils OU enflure légère de la patte et du poignet/cheville, mais la patte garde sa forme en « V » normale
2	Les deux côtés de la patte (métacarpe, métatarse) sont parallèles entre eux et la patte perd sa forme en « V » normale. Enflure modérée
3	Inversion de la forme en « V » de la patte, sa largeur au niveau de la cheville devient plus grande que celle au niveau des doigts/orteils (phalanges). Enflure sévère

Score

Hind Paw

0



1



2



3



Image 1 – Exemple de l'indice clinique

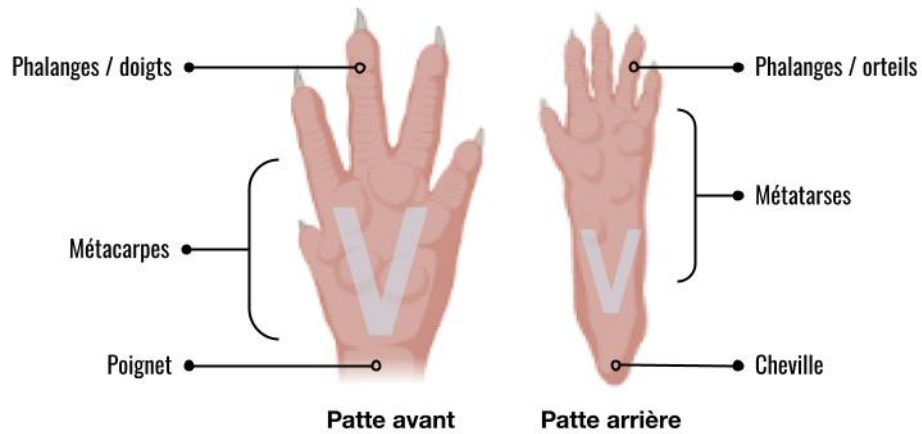


Image 2 – Schéma des pattes avant et arrière normales chez la souris

(Image modifiée tirée de [Biorender](#))

- Euthanasier l'animal :
 - En respect de la PNF ETH-10 pour toutes autres conditions non spécifiques au modèle;
 - Si boiterie avant jour 7;
 - Si un indice clinique total de 8 à 11, ou de 3 sur une seule patte avant jour 7.



Souris C57BL/6J avec arthrite, sans atteinte des points limites



Souris C57BL/6J avec arthrite, avec atteinte des points limites

Mesure de l'épaisseur des chevilles

Il s'agit de mesurer l'épaisseur des chevilles (à la malléole, au centième de millimètre près, voir image 3) avant l'injection de sérum K/BxN et de mesurer le delta d'épaisseur au fil du temps. Il est primordial que cette mesure se fasse rapidement. Elle doit être prise dès que les deux côtés de la malléole touchent la cheville. Si la mesure n'est pas prise immédiatement, la malléole écrasera les tissus et l'épaisseur réelle de la cheville sera alors sous-estimée.

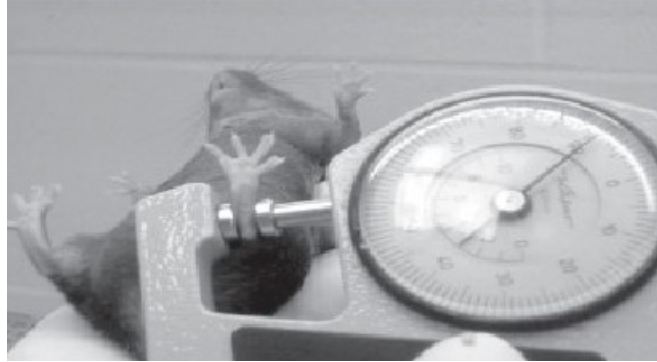


Image 3 – Mesure de l'épaisseur des chevilles à la malléole

- Euthanasier l'animal :
 - En respect de la PNF ETH-10 pour toutes autres conditions non spécifiques au modèle;
 - Si boiterie avant jour 7;
 - Si la différence entre l'épaisseur de la cheville au jour 0 et l'épaisseur de la cheville le jour de la prise de mesure est supérieure à 1 mm sur une de ses pattes avant jour 7.

Poids

Une perte de poids de 10 % est normalement observée au jour 7 dans les cas les plus sévères (par exemple en présence de gènes qui promeuvent l'inflammation), soit la journée prévue pour l'euthanasie des animaux. Si une perte de poids supérieure à 10 % est observée avant le jour 7, aucun traitement ne sera instauré et l'animal sera euthanasié dans la journée.

Références

CCPA, *Lignes directrices du CCPA : la détermination de points limites scientifiques, de points d'intervention éthique, et de points limites cumulatifs*, 2022.

Monach P, Hattori K, Huang H, Hyatt E, Morse J, Nguyen L, Ortiz-Lopez A, Wu HJ, Mathis D, Benoist C, *The K/BxN mouse model of inflammatory arthritis: theory and practice*, *Methods Mol Med* 2007; 136:269-82.

Monach PA, Mathis D, Benoist C, *The K/BxN arthritis model*, Curr Protoc Immuno. 2008 May;Chapter 15:15.22.1-15.22.12.