



UNIVERSITÉ
LAVAL

Direction des services vétérinaires

Procédure normalisée de fonctionnement

Objet : Modèle d'irradiation chez la souris	Numéro : M-7
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 les vétérinaires de la DSV <i>Vétérinaire clinicienne, Direction des services vétérinaires</i>	Date : 25 juillet 2018
Préparée par les techniciennes en santé animale – conformité <i>Direction des services vétérinaires</i>	Date : 12 mars 2024
Révisée par les vétérinaires de la DSV <i>Direction des services vétérinaires</i>	Date : 29 octobre 2024
But : Décrire les procédures d'irradiation chez la souris.	Version : 3

Généralités

- L'exposition à des radiations tue les cellules en division rapide de l'animal, comme les cellules hématopoïétiques et les cellules du tractus gastro-intestinal. L'animal devient donc immunosupprimé.
- Cette procédure permet notamment les greffes de moelle osseuse, l'implantation de cellules tumorales et la production d'animaux chimériques.
- Lorsque possible, l'utilisation des modèles de souris immunosupprimées disponibles commercialement doit être préconisée (ex. NCG de Charles River, NSG de JAX, NOG de Taconic).
- Les souris irradiées doivent être hébergées sous conditions stériles (nourriture, litière, eau et cage stériles) pour une durée de 4 semaines.
- Afin de prévenir le développement d'une antibiorésistance, l'utilisation d'antibiotique n'est pas autorisée.
- L'énergie absorbée dans le corps de l'animal lors d'une exposition à l'irradiation porte le nom de dose absorbée. La dose absorbée se mesure grâce à une unité appelée le gray (Gy).
- Un gray (Gy) est l'équivalent de 100 rads, ce qui correspond à une dose absorbée de 1 Joule par kilogramme.
- Les souris irradiées ne doivent pas être utilisées en reproduction puisque l'exposition à des radiations affecte grandement le système reproducteur et le développement des fœtus.

- Octroyer une période de récupération de 8 semaines suivant l'irradiation avant de débiter l'expérimentation.
- La réponse des cellules souches hématopoïétiques suivant l'irradiation peut différer selon l'âge et en fonction de lignée de souris sélectionnée.

Procédure d'irradiation myéloablative sublétales

- Une irradiation myéloablative sublétales peut être obtenue avec des doses d'irradiation inférieures à 7 Gy ce qui entraîne une légère baisse de l'hématopoïèse. L'animal récupère alors beaucoup plus rapidement sans nécessairement avoir besoin de soins de support.

Période pré irradiation (dose sublétales)

- Offrir une période d'acclimatation de trois jours avec les bouteilles d'eau si les souris sont hébergées dans des cages avec système d'eau automatisé.

Irradiation (dose sublétales)

- Déterminer la dose d'irradiation en fonction de la lignée de souris utilisée et de l'expérimentation effectuée. Réaliser une étude pilote avant le début d'une nouvelle étude pour déterminer la dose adéquate, à moins que des références claires soient disponibles dans la littérature.
- Irradier les souris dans un contenant certifié pour l'irradiation. Celui-ci doit être fermé et il doit permettre une circulation d'air. Une fois l'irradiation terminée, les souris doivent être transférées dans une cage stérile dans l'immédiat. Le transfert doit être fait sous une enceinte biologique. Ensuite, apposez une identification sur la cage indiquant la date d'irradiation et le dosage d'irradiation.
- Toute manipulation doit être effectuée sous une enceinte biologique lors des quatre premières semaines suivant l'irradiation.
- Lors de greffe de moelle osseuse, administrer l'inoculum entre 4 et 24 heures post-irradiation pour un maximum d'efficacité.

Traitements et suivi post-irradiation (dose sublétales)

- Faire une observation de l'animal dans les 24 heures post-irradiation.
- Faire un suivi bihebdomadaire du pointage post irradiation à l'aide du tableau 2 avec un espacement de deux jours ou trois jours entre les suivis en fonction de la fréquence du suivi du poids de l'animal afin de minimiser le stress.
- Le suivi doit être fait minimalement sur 14 jours. Ensuite, il pourra être cessé lorsque le pointage atteindra zéro.

- À la suite des 14 premiers jours du suivi, si le pointage est à moins de trois, le suivi peut être réduit à une fois par semaine jusqu'à atteindre un pointage de zéro.
- Faire le premier suivi de poids au jour 3 après l'irradiation puis continuer le suivi du poids aux 2 ou 3 jours selon les indications du tableau 1, pour éviter les mortalités causées par le stress des manipulations.
- Vérifier l'état d'hydratation à la même fréquence que le suivi de poids.
- Il est fréquent qu'une perte de poids soit présente pendant la première semaine. Un regain devrait ensuite être observé. Se référer au tableau 1 pour le suivi requis.
- Établir un suivi de traitement si une déshydratation ou toutes autres conditions sont observées en respect à la PNF TX-1.

Procédure d'irradiation myéloablativale létale

- Cette procédure permet de rendre l'animal immunosupprimé par une irradiation complète du corps à une exposition établie de 7 à 13 Gy. Ce type d'irradiation est plus sévère puisqu'il s'agit d'une suppression complète de l'hématopoïèse qui ne peut alors pas se rétablir naturellement. Seulement une greffe de cellules souches permettra de remonter l'hématopoïèse. La toxicité est donc beaucoup plus significative et les symptômes de l'animal le sont également.

Période pré irradiation (dose létale)

- Offrir une période d'acclimatation de 3 jours à la nourriture humide et au DietGel® Boost.
- Offrir une période d'acclimatation de 3 jours avec les bouteilles d'eau si les souris sont hébergées dans des cages avec système d'eau automatisé
- Injecter des fluides réchauffés à l'animal avant le début de l'irradiation (1 ml de Lactate de Ringer® (LRS) par voie sous-cutanée).

Irradiation (dose létale)

- Déterminer la dose d'irradiation en fonction de la lignée de souris utilisée et de l'expérimentation effectuée. Réaliser une étude pilote avant le début d'une nouvelle étude pour déterminer la dose adéquate, à moins que des références claires soient disponibles dans la littérature.
- Irradier les souris dans un contenant certifié pour l'irradiation. Celui-ci doit être fermé et il doit permettre une circulation d'air. Une fois l'irradiation terminée, les souris doivent être transférées dans une cage stérile dans l'immédiat. Le transfert doit être fait sous une enceinte biologique. Ensuite, apposez une identification sur la cage indiquant la date d'irradiation et le dosage d'irradiation.

- Toute manipulation doit être effectuée sous une enceinte biologique lors des quatre premières semaines suivant l'irradiation.
- Lors de greffe de moelle osseuse, administrer l'inoculum entre 4 et 24 heures post-irradiation pour un maximum d'efficacité.

Traitements et suivi post-irradiation (dose létale)

- Faire une observation de l'animal dans les 24 heures post-irradiation et injecter 1 ml d'une solution de Lactate de Ringer réchauffée par voie sous-cutanée 24 heures après l'irradiation.
- Faire un suivi bihebdomadaire du pointage post irradiation à l'aide du tableau 2 avec un espacement de deux jours ou trois jours entre les suivis en fonction de la fréquence du suivi du poids de l'animal afin de minimiser le stress.
- Le suivi doit être fait minimalement sur 14 jours. Ensuite, il pourra être cessé lorsque le pointage atteindra zéro.

- À la suite des 14 premiers jours du suivi, si le pointage est à moins de trois, le suivi peut être réduit à une fois par semaine jusqu'à atteindre un pointage de zéro.
- Offrir une nourriture humide à l'animal ainsi que du DietGel® Boost et la remplacer quotidiennement pour les 14 premiers jours post irradiation.

Note : Le DietGel® Boost peut être changé aux deux jours, cependant la quantité distribuée doit être suffisante afin de couvrir les deux jours.

- À partir du jour 15, offrir de la nourriture humide et DietGel® Boost au fond de la cage trois jours par semaine, soit le lundi, mercredi et le vendredi. Continuer jusqu'à ce que le pointage de la souris atteigne zéro et continuer jusqu'à ce que la souris retrouve son poids de départ.
- Faire le premier suivi de poids au jour 3 après l'irradiation puis continuer le suivi du poids aux 2 ou 3 jours selon les indications du tableau 1, pour éviter les mortalités causées par le stress des manipulations.
- Vérifier l'état d'hydratation à la même fréquence que le suivi de poids.
- Il est fréquent qu'une perte de poids soit présente pendant la première semaine. Un regain devrait ensuite être observé. Se référer au tableau 1 pour le suivi requis.
- Vérifications des dents aux deux semaines lors du changement de cage.
 - Faire une contention pour vérifier correctement les dents.
 - Si les signes suivants sont observés, un suivi de santé pour malocclusion doit être établi par le personnel de soins. Se référer à la PNF TX-1 :
 - Mobilité dentaire

- Pertes d'incisives
- Changements d'apparence
- Il peut y avoir des repousses croches.
- Établir un suivi de santé si une déshydratation ou toutes autres conditions sont observées en respect à la PNF TX-1.

Tableau 1 : Suivi de la perte de poids

Pourcentage de perte de poids par rapport au poids initial (%)	État de chair	Suivi	Actions
< de 15 %	≥ 3	Suivi de poids et hydratation aux 3 jours	Nourriture humide + DietGel® Boost Injection 1ml LRS ¹ SID
Entre 15-19 %	≥ 3	Suivi de poids et hydratation aux 2 jours (48 h)	Nourriture humide + DietGel® Boost Injection 1ml LRS BID
20 %	≥ 3	Suivi de poids et hydratation aux 2 jours	Si l'animal commence à reprendre du poids 48 h plus tard continuer Nourriture humide + DietGel® Boost Injection 1ml LRS BID
	≤ 2	Suivi de poids et hydratation aux 2 jours	Si l'animal continue à perdre du poids 48 h plus tard = euthanasie ou perfusion dans l'heure suivante

¹ LRS : Lactate de Ringer

Tableau 2 : Charte pour le suivi de santé des souris irradiées

Posture		Yeux		Niveau d'activité	
0	Normale	0	Yeux ouverts (> 75 %)	0	Normal
1	Dos légèrement courbé	1	Yeux partiellement ouverts (50 à 75 %)	1	Légère diminution
2	Dos modérément courbé	2	Yeux partiellement fermés (25 à 50 %)	2	Moyenne diminution
3	Dos sévèrement courbé	3	Fermeture complète (< 25 %)	3	Forte diminution ou absence d'activité

Tableau 3 : Syndrome d'irradiation aiguë chez les souris soumises à l'irradiation corporelle totale

Perte de poids	Léthargie, diarrhée, et anorexie pouvant mener à une perte de poids qui atteint un pic vers 7-10 jours post-irradiation. La récupération se fait habituellement en 2-3 semaines.
Anémie, leucopénie et thrombocytopénie	La destruction des cellules sanguines et des plaquettes produit un état d'immunosuppression et des problèmes de coagulation.
Destruction des cellules gastro-intestinales	Perte de sang au niveau du tractus gastro-intestinal et translocation des bactéries du tractus gastro-intestinal vers le reste du corps pouvant produire une bactériémie sévère.
Non-prise de greffe	Si la dose de l'irradiation est trop basse, la greffe de moelle osseuse sera rejetée par les cellules de l'hôte.
Maladie du greffon contre l'hôte (GvHD)	Le GvHD est causé par l'implantation de cellules humaines ou de cellules d'une différente lignée de celle du receveur. Les cellules immunitaires présentes dans le tissu transplanté du donneur identifient les tissus du receveur comme étant étrangers, ce qui provoque une réponse immunitaire contre eux, entraînant le rejet de la greffe.
Perte de pigmentation	Les poils des souris C57BL/6 peuvent devenir gris après l'irradiation.
Perte de dents	Une perte des incisives après l'irradiation menant à l'incapacité de s'alimenter peut être une cause de perte de poids.

Points limites scientifiques

- Le terme « point limite scientifique » décrit l'indicateur le plus précoce qui permet de réaliser les objectifs énoncés pour une activité scientifique.
- Euthanasier les animaux qui présentent le signe clinique suivant :
 - Un animal avec un pointage de plus de 7.

Points d'interventions éthiques

- Le « point d'intervention éthique » décrit les signes (c'est-à-dire des effets observables sur la santé, des modifications physiologiques, des manifestations comportementales) qui, lorsqu'ils sont présents, exigent d'intervenir pour le bien-être des animaux.
- Euthanasier les animaux qui présentent un ou plusieurs signes cliniques suivants :
 - Un animal moribond.
 - Un animal avec une dentition anormale qui est non traitable.
 - Un animal dont le pointage ne s'améliore pas après 14 jours post irradiation.
 - Une perte de poids 20 % avec un état de chair ≤ 2 .
 - Tous les autres points figurant dans la PNF ETH-10a

Références

McGill University, *SOP 615.03 – Post-irradiation care*, 2015.

Duran-Struuck, R, Dysko, RC, *Principles of Bone Marrow Transplantation (BMT): Providing Optimal Veterinary and Husbandry Care to Irradiate Mice in BMT Studies*. J Am Assoc Lab Anim Sci, 2009.

Boston University, *Irradiation of Rodents*, 2014.

Nunamaker et al., *Endpoint Refinement for Total Body Irradiation of C57Bl/6 Mice*, Comparative Medicine, 2013.

McGill University, *SOP 615.04 – Rodent post-irradiation care*, 2023.

Gouvernement du Canada, Doses de rayonnement, 2023, sur le site: <https://www.cnsccsn.gc.ca>. Consulté en mars 2024.

Elsevier Inc, American Society for Transplantation and Cellular Therapy, *Comparison of High Doses of Total Body Irradiation in Myeloablative Conditioning before Hematopoietic Cell Transplantation*, 2019.

DietGel® Boost, *Clear H₂O*, 2024 sur le site : <https://www.clearh2o.com/product/dietgel-boost/#tab-applications> . Consulté en juin 2024.

U.S.NRC, *Gray (Gy)*, March 09, 2021, sur le site : <https://www.nrc.gov/reading-rm/basic-ref/glossary/gray-gy.html> . Consulté en octobre 2024.

Mises à jour de la PNF		
Version 2	18 juin 2019	Retrait des antibiotiques dans l'eau et ajout du MediGel® TMS. Clarification du suivi de poids avec l'ajout du Tableau 1.
Version 3	29 octobre 2024	Ajout définition GY Ajout différenciation dose létale vs sublétale Ajout du formulaire de suivi de santé (annexe 1) Raffinement tableau 1 et 2 Clarification définition GvHD Ajout de la non-prise de greffe

Annexe 1

Formulaire de suivi santé – souris irradiées

SUIVI MODÈLES LONGITUDINAUX - Souris irradiées

Chercheur :		Protocole :				Date(s) irradiation:				GY:				Responsable:			
ID	Observations et traitements	J	Date / Init.	J	Date / Init.	J	Date / Init.	J	Date / Init.	J	Date / Init.	J	Date / Init.	J	Date / Init.	J	Date / Init.
☺	PD: Poids (g)																
	(J-O) % perte / gain																
	État de chair (/5)																
	Pointage posture (/3)																
	Pointage yeux (/3)																
	Pointage niveau activité (/3)																
	PD - Pointage cumulatif (/9)																
	20%: Déshydratation	Absente	Présente	Absente	Présente	Absente	Présente	Absente	Présente	Absente	Présente	Absente	Présente	Absente	Présente	Absente	Présente
	Injection 1ml LRS (SID à BID)	AM	PM	AM	PM	AM	PM	AM	PM	AM	PM	AM	PM	AM	PM	AM	PM
	Nourr. hum. + DietGel® Boost	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Suivi vétérinaire	OUI	NON	OUI	NON	OUI	NON	OUI	NON	OUI	NON	OUI	NON	OUI	NON	OUI	NON	
☺	PD: Poids (g)																
	(J-O) % perte / gain																
	État de chair (/5)																
	Pointage posture (/3)																
	Pointage yeux (/3)																
	Pointage niveau activité (/3)																
	PD - Pointage cumulatif (/9)																
	20%: Déshydratation	Absente	Présente	Absente	Présente	Absente	Présente	Absente	Présente	Absente	Présente	Absente	Présente	Absente	Présente	Absente	Présente
	Injection 1ml LRS (SID à BID)	AM	PM	AM	PM	AM	PM	AM	PM	AM	PM	AM	PM	AM	PM	AM	PM
	Nourr. hum. + DietGel® Boost	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Suivi vétérinaire	OUI	NON	OUI	NON	OUI	NON	OUI	NON	OUI	NON	OUI	NON	OUI	NON	OUI	NON	
☺	PD: Poids (g)																
	(J-O) % perte / gain																
	État de chair (/5)																
	Pointage posture (/3)																
	Pointage yeux (/3)																
	Pointage niveau activité (/3)																
	PD - Pointage cumulatif (/9)																
	20%: Déshydratation	Absente	Présente	Absente	Présente	Absente	Présente	Absente	Présente	Absente	Présente	Absente	Présente	Absente	Présente	Absente	Présente
	Injection 1ml LRS (SID à BID)	AM	PM	AM	PM	AM	PM	AM	PM	AM	PM	AM	PM	AM	PM	AM	PM
	Nourr. hum. + DietGel® Boost	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Suivi vétérinaire	OUI	NON	OUI	NON	OUI	NON	OUI	NON	OUI	NON	OUI	NON	OUI	NON	OUI	NON	
☺	PD: Poids (g)																
	(J-O) % perte / gain																
	État de chair (/5)																
	Pointage posture (/3)																
	Pointage yeux (/3)																
	Pointage niveau activité (/3)																
	PD - Pointage cumulatif (/9)																
	20%: Déshydratation	Absente	Présente	Absente	Présente	Absente	Présente	Absente	Présente	Absente	Présente	Absente	Présente	Absente	Présente	Absente	Présente
	Injection 1ml LRS (SID à BID)	AM	PM	AM	PM	AM	PM	AM	PM	AM	PM	AM	PM	AM	PM	AM	PM
	Nourr. hum. + DietGel® Boost	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Suivi vétérinaire	OUI	NON	OUI	NON	OUI	NON	OUI	NON	OUI	NON	OUI	NON	OUI	NON	OUI	NON	

Légende : Suivi de poids = Référez-vous au tableau 1 (PNF M-7) ; Pointages posture, yeux, niveau d'activité = Référez-vous au tableau 2 (PNF M-7)

Note: animal moribond ou un animal ayant un pointage de plus de 7 nécessite une euthanasie. // Un animal dont le pointage ne s'améliore pas dans les 14 jours post irradiation devrait être euthanasié.

Les versions Excel et PDF sont disponibles en ligne sous l'onglet modèle : <https://www.dsv.ulaval.ca/formulaires/>