



PNF M-10					
Irradiation et soins post-irradiation					
Créée par :	<u>Marilaine Fournier</u>	Date :	<u>Avril 2012</u>	Version:	<u>1.0</u>
Modifiée par :	<u>Marie-Ève Lebel</u>	Date :	<u>Février 2024</u>	Version:	<u>5.0</u>
Révisée par :	<u>Fany DeWilde et</u> <u>Geneviève L. Roy</u>	Date :	<u>Mai 2024</u>		

<i>Chef de service et opérations</i>	 Nathalie Tessier	10-06-2024 Date
<i>Vétérinaire</i>	 Geneviève L. Roy	10-06-2024 Date
<i>Président du Comité de Protection des Animaux</i>	 Bruno Larrivée	10-06-2024 Date

1. BUT / OBJECTIF

Le but de cette Procédure Normalisée de Fonctionnement (PNF) est de décrire les procédures d'irradiation ainsi que la surveillance et les traitements post-irradiation de souris.

2. APPLICABLE À / RESPONSABILITÉS

Cette PNF est la responsabilité de tout le personnel qualifié de l'Animalerie du Centre de Recherche de l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont (ACRHMR) et des utilisateurs qui procèdent à l'irradiation de souris. Le personnel ayant à irradier des souris doit lire, comprendre et appliquer cette PNF. Les membres du Comité de Protection des Animaux (CPA) doivent approuver et réviser cette PNF au moins aux 3 ans. La coordonnatrice de l'animalerie doit s'assurer que le personnel et les utilisateurs appliquent cette PNF correctement.



3. INFORMATIONS

L'irradiation des souris permet de détruire les cellules à réplication rapide. Cela inclut autant les cellules de la moelle osseuse que certaines cellules épithéliales de l'intestin ou d'autres organes. La dose d'irradiation, l'âge ainsi que la lignée de souris sont des facteurs pouvant affecter le degré de morbidité (léthargie, anorexie, diarrhée, etc.) et de mortalité associée à l'irradiation. Par exemple, les souris BALB/c sont très sensibles aux irradiations, alors que les C57BL/6 sont beaucoup plus résistantes (voir l'annexe I pour plus de détails). Les souris qui ont des défauts de réparation de l'ADN sont aussi très susceptibles aux radiations. Ainsi, il est important de choisir la bonne dose puisqu'une dose excessive engendrera inévitablement de la morbidité ou de la mortalité, alors qu'une dose insuffisante va nuire au succès de l'expérience et limiter l'interprétation des résultats. Si le chercheur n'est pas familier avec une lignée de souris et/ou que les doses d'irradiation sont inconnues ou non disponibles dans la littérature, une étude pilote sur un petit nombre d'animaux pourrait être requise. L'étude pilote devra être préalablement approuvée par le CPA. L'âge minimum acceptable pour l'irradiation est de six semaines.

La plupart du temps, l'irradiation des souris vise à détruire une partie du système immunitaire de l'animal et sera suivi par une transplantation de cellules souches. La transplantation de cellules souches hématopoïétiques doit être accomplie au maximum 24 heures après l'irradiation à une dose létale. Les cellules souches hématopoïétiques sont administrées via la veine caudale selon les directives décrites dans la PNF M-09 Gavage et injections. Tout animal irradié avec des doses létales et n'ayant pas reçu de transplantation de cellules souches hématopoïétiques doit être euthanasié maximum 48 heures après l'irradiation. Tout contrôle irradié non greffé doit être justifié auprès du CPA avec une référence à l'appui et un plan de surveillance animal détaillé.

Il est important de réaliser que les souris irradiées sont immunodéficientes pendant plusieurs semaines, même après une greffe de moelle osseuse. Elles seront donc susceptibles aux infections opportunistes. Ainsi, l'hébergement des souris dans un environnement **entièrement stérile** (cage, litière, matériel d'enrichissement, nourriture et eau) jusqu'à ce que leur système immunitaire soit reconstitué par la greffe est fortement encouragé et devient obligatoire en cas de complications post-irradiation. L'administration d'antibiotique ne garantit pas l'absence de complication et cette pratique contribue à l'apparition de souches bactériennes résistantes. Un suivi clinique post-irradiation est primordial afin de promouvoir la santé et le bien-être des animaux ainsi que le succès du protocole expérimental.

Le Centre de Recherche de l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont a accès à l'irradiateur du département de radio-oncologie. Cet appareil est utilisé pour les patients et est opéré par du personnel technique qualifié. Il est important de prendre rendez-vous au moins une semaine à l'avance et de confirmer le jour précédent l'irradiation des animaux.

4. DÉFINITIONS

ACRHMR : Animalerie du Centre de Recherche de l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont

CPA : Comité de Protection des Animaux



ESB :	Enceinte de Sécurité Biologique
PNF :	Procédure Normalisée de Fonctionnement
TSA :	Technicien(ne) en Santé Animale
Utilisateur :	Membre d'une équipe de recherche utilisant les services de l'animalerie

5. EXEMPLAIRES / FORMULAIRES / ATTACHEMENTS

Annexe I :	Références de doses d'irradiation selon la lignée de souris
Annexe II :	Carton post-irradiation
Annexe III :	Exemple de plan d'intervention éthique
Annexe IV :	Exemple de feuille de suivi des animaux irradiés

6. MATÉRIEL / ÉQUIPEMENT

- Cages à irradiation munies d'un séparateur
- Solution isotonique stérile pour injection (Solution saline 0.9% ou du Lactate de Ringer (LRS))
- Supplément en eau ou alimentaire (ex. HydroGel, DietGel®, Nutrical)
- Irradiateur
- Seringues et aiguilles
- Tube de contention pour injection intraveineuse
- Lampe chauffante
- Cages stériles (eau stérile et nourriture extrudée)

7. ÉTAPES / PROCÉDURES

7.1. Avant l'irradiation

- Au moins une semaine avant l'irradiation, contacter Noémie Rodrigue à l'adresse suivante : noemierod@hotmail.com et lui mentionner :
 - La dose d'irradiation en Gy (Gray) (intervalle acceptable 100 à 1200 cGy)
 - La date souhaitée pour l'irradiation
 - Le nombre de cages à irradier (cage d'irradiation et non cage d'hébergement, il est possible de mettre un maximum de 4 cages d'hébergement dans une cage d'irradiation)
 - Le nom du laboratoire
- **Une semaine avant l'irradiation**, écrire un courriel à la Technicienne en Santé Animale (TSA) en charge de votre laboratoire en spécifiant :
 - La date à laquelle aura lieu l'irradiation
 - Le nombre de cages stériles nécessaires.



- La veille de l'irradiation, la TSA en charge du labo préparera les cages complètes stériles et les identifiera au nom de la personnes responsable de l'expérience. Les cages stériles, ainsi que les bouteilles de Baytril, si nécessaire, sont préparées exclusivement par les TSAs.

7.2. La journée de l'irradiation

- Peser les animaux à irradier, indiquer leur poids sur la feuille de suivi et ajouter la feuille dans le cartable de la pièce d'hébergement.
- Administrer 1ml de fluides isotoniques réchauffée avec la paume de la main par voie sous-cutanée à chaque animal.
- Sous l'Enceinte de Sécurité Biologique (ESB), transférer les animaux dans les cages d'irradiation de façon stérile. Il est fortement recommandé de placer un maximum de trois souris par compartiment de la cage d'irradiation. **Un maximum de 16 souris peut être mis dans une même cage d'irradiation**, soit quatre souris par compartiment, si elles sont transférées dans leur cage d'hébergement immédiatement après l'irradiation. Dans tous les cas, les souris doivent rester dans les cages d'irradiation un **maximum d'une heure**. Les souris provenant de différentes cages d'hébergement ne peuvent pas être placées dans un même compartiment (ou une cage sans compartiment). Il est possible d'identifier les animaux de façon temporaire à l'aide d'un feutre au niveau de la queue (sans cacher la veine caudale afin de ne pas compliquer l'injection intraveineuse) afin de s'assurer de les retourner dans leur cage respective.
- Vaporiser l'extérieur des cages d'irradiation avec le désinfectant de l'animalerie (p.ex. : Peroxigard), en évitant d'asperger le filtre du couvercle de cage et les déposer sur un chariot.
- Couvrir les cages d'irradiation d'un tissu propre et opaque afin de s'assurer que les patients, le personnel et les usagers de l'hôpital ne soient pas en contact avec les allergènes provenant des animaux et que l'accès visuel aux animaux soit obstrué.
- Transporter les cages d'irradiation contenant les animaux vers la salle d'irradiation et procéder à l'irradiation en utilisant les doses spécifiées au protocole approuvé par le CPA.
- Sous l'ESB, remettre les animaux dans les cages stériles préalablement préparées par votre TSA
- Ajouter à chaque cage un plat de pétris contenant une supplémentation en eau ou alimentaire (DietGel, Hydrogel, Nutrical ou nourriture mouillée).
- Procéder à la transplantation de cellules souches hématopoïétiques dans les 24 heures.
- Apposer un carton spécifique d'irradiation dûment rempli sur les cages irradiées (consulter l'annexe II, carton post-irradiation).



7.3 Traitements et surveillance post-irradiation

- 24 heures post-irradiation, sous l'ESB, évaluer l'état de santé des animaux et administrer, par voie sous-cutanée, des fluides isotoniques stériles réchauffés avec la paume de la main. Poursuivre ce traitement au besoin.
- Poursuivre la supplémentation en eau ou alimentaire (HydroGel, DietGel, Nutrical et /ou les nourriture mouillée), en la remplaçant à **chaque jour durant 7 jours**.
- Trois jours post-irradiation, effectuer une prise de poids et évaluer l'indice de masse corporelle.
- Poursuivre le suivi animal au moins 2 fois par semaine durant 14 jours. Noter le poids jusqu'au retour à un poids acceptable. Si une souris présente des signes de morbidité, augmenter la fréquence du suivi et intervenir en fonction du plan d'intervention éthique (voir annexe III : Plan d'intervention éthique).
- Lors de l'observation quotidienne au travers de la cage, le personnel de l'animalerie doit également évaluer visuellement la posture de l'animal, ses déplacements, la qualité de son pelage et son expression faciale (consulter l'annexe III : Plan d'intervention éthique).
- Les cages devront être changées à chaque semaine par la TSA et demeurer stériles afin de limiter le risque d'infection pour un total de 21 jours (2 changements de cage). Ajouter le carton «manipuler par TSA» seulement durant ce temps.
- L'utilisation d'antibiotiques n'est pas recommandée si des conditions **entièrement** stériles (cage, litière, enrichissement, nourriture et eau) sont remplies et maintenues.
- S'il est impossible de maintenir ces conditions ou qu'une infection survient, un antibiotique (Baytril 100 mg/ml) dans l'eau de boisson peut être administré durant 14 jours minimum.
- Notes toutes les observations ainsi que les traitements sur la feuille de suivi des animaux conservé dans le cartable dans la salle d'hébergement (voir l'annexe IV : Exemple de feuille de suivi des animaux irradiés).

À l'exception de l'observation quotidienne et la préparation des cages stériles ou du Baytril, toutes les manipulations et le suivi des animaux est sous la responsabilité des utilisateurs. Dans le cas où les TSAs devraient s'occuper des traitements et de la surveillance post-irradiation, l'utilisateur doit en informer sa TSA au préalable et le laboratoire sera facturé en conséquence.

8. RÉFÉRENCES / PROCÉDURES CONNEXES

Raimon Duran-Struuck, and Robert C Dysko. "Principles of Bone Marrow Transplantation (BMT) : Providing Optimal Veterinary and Husbandry Care to Irradiated Mice in BMT Studies". *JAALAS* .Vol 48, no°1 (2009), pp.11-22.



Fox J.G et al. *The Mouse in Biomedical Research*. 2nd Ed. Academic Press. ACLAM Series. Vol 3 (2007), pp.453-454.

<https://www.dsv.ulaval.ca/wp-content/uploads/2018/12/M-7-souris-irradiées.pdf>

<https://www.bu.edu/researchsupport/compliance/animal-care/working-with-animals/procedures/irradiation-of-rodents-iacuc/>

Nunamaker, Elizabeth A. et al. "Predictive Observation-Based Endpoint Criteria for Mice Receiving Total Body Irradiation". *Comparative Medicine by the American Association for Laboratory Animal Science*. Vol 63, no°4 (2013), pp. 313–322.

Nunamaker, Elizabeth A. et al. "Endpoint Refinement for Total Body Irradiation of C57BL/6 Mice". *Comparative Medicine by the American Association for Laboratory Animal Science*. Vol. 63, no°1 (2013), pp. 22–28.

Carpenter, James. *Exotic Animal Formulary*. 5th Edition. Elsevier Saunders (2017), 776 p.

Hawk, C. Terrance, Leary, Steven and Morris, Timothy. *Formulary For Laboratory Animals*. Third Edition. Blackwell Publishing (2005), pp.85-86.

<https://www.taconic.com/taconic-insights/oncology-immuno-oncology/rodent-irradiation-considerations.html>

CCPA. Lignes directrices du CCPA : les souris (2019)

https://www.ccac.ca/Documents/Normes/Lignes_directrices/Lignes_directrices_du_CCPA_sur_les_souris.pdf.

Marx, O James et al. « Antibiotic Administration In The Drinking Water of Mice ». *JALAAS*. Vol.53, no°3 (2014), pp. 301-306

9. HISTORIQUE DES MODIFICATIONS

Date	Modifications	Version
Mars 2016	Mise à jour	2.0
Août 2019	Refonte de la PNF	3.0
Février 2020	Mise à jour	4.0
Mai 2024	Mise à jour et transfert sur le nouveau gabarit	5.0



ANNEXE I : Références de doses d'irradiation selon la lignée/souche de souris

Souche	Dosage typique (cGy)	Notes
C57BL/6	<p>Myéloablation complète : - Dose unique : 900cGy à 12 Gy - Dose fractionnée : 600 + 600 cGy (avec un intervalle de 3-4 h)</p> <p>Myéloablation partielle (dose sublétales) : - Dose unique : 350 à 600 cGy</p>	Il a été démontré que le fractionnement d'une dose en administrant 2 demi-doses séparées par 3 à 4 heures réduit les complications radiologiques avec une myéloablation équivalente
BALB/c	<p>Myéloablation complète : - Dose unique : 700-800 cGy maximum</p> <p>Myéloablation partielle (dose sublétales) : - Dose unique : 600 cGy ou moins</p>	
SCID	Immunosuppression : 50-250 cGy	
- Radiosensibilité relative des souches de souris : 129S ≤ SJL ≤ C3H ≤ C57BL/6 << BALB/c << scid		

Légende : 1 Gy = 100 cGy. (<https://www.taconic.com/taconic-insights/oncology-immuno-oncology/rodent-irradiation-considerations.html>)



Annexe III : Exemple de plan d'intervention éthique

PLAN D'INTERVENTIONS

Chercheur :	Responsable :	#Protocole :	#Pièce :
Projet :			

Critères	Signes cliniques	Pointages	Interventions
Activité/Posture	Dos légèrement voûté	1	<p>Pointage de 0 = Rien d'anormal n'est observé :</p> <ul style="list-style-type: none"> – Faire une évaluation par semaine – Aucune intervention particulière
	Activité réduite; Démarche modifiée : Dos voûté; Capable de se lever ou s'étirer	2	
	Baisse marquée de l'activité; Démarche sur la pointe des pieds; Dos voûté; boiterie – incoordination - tremblement; Parésie	3	
	Immobile <u>avant</u> manips; Très lent, bouge peu/pas après stimulus; Décubitus; incapable de se dresser; Paralysie; Incoordination ou tremblements marqués	4	
Pelage	Poils ébouriffés : faible à modérés	1	<p>Pointage de 1 :</p> <ul style="list-style-type: none"> – Vérifier les autres signes cliniques – Augmenter la fréquence des réévaluations – Informer le labo
	Horripilation très marquée	3	
	Lésion peau - écoulement yeux = traitables	2	
	Lésion peau - écoulement yeux sévères = non traitables	4	
Expressions faciales	Yeux mi-clos (25%) mais ouverts après stimulation; Yeux ouverts et oreilles vers arrière	1	<p>Pointage de 2 :</p> <ul style="list-style-type: none"> – Vérifier les autres signes cliniques – Vérifier l'environnement immédiat – Débuter les traitements (ex., croquettes humidifiées, DietGel, argile verte) si applicables selon les traitements préapprouvés – Augmenter la fréquence des réévaluations à une fois par jour selon les critères – Communiquer avec le labo – Communiquer avec le vétérinaire au besoin
	Yeux mi-clos (50% fermés) sans changement après stimulation	2	
	Yeux mi-clos à clos (75% fermés) + nez et joues gonflés + Oreilles vers extérieure ou en arrière	3	
Comportement	Signes d'agressivité; Vocalise lors de manipulation; Comportement éthologique ou de nidification un peu altéré	2	<p>Pointage de 2 :</p> <ul style="list-style-type: none"> – Vérifier les autres signes cliniques – Vérifier l'environnement immédiat – Débuter les traitements (ex., croquettes humidifiées, DietGel, argile verte) si applicables selon les traitements préapprouvés – Augmenter la fréquence des réévaluations à une fois par jour selon les critères – Communiquer avec le labo – Communiquer avec le vétérinaire au besoin
	Stéréotypie (bouge sans arrêt, tournis, etc): Masse empêchant ses activités normales (se toiletter, se mouvoir, etc); Agressivité++; Vocalisation durant phase d'activité	3	



Annexe IV : Exemple de feuille de suivi des animaux irradiés

Chercheur :	# Protocole :	Date prévue d'euthanasie :
Responsable(s) :	Date de l'irradiation :	Dose d'irradiation :

# Animal:						Date et Initiales
1) Poids initial (g)						
2) Perte de 20% (g)						

Suivi obligatoire						Date et Initiales
Fluide s.c. J0						
Observation J1						
Fluide s.c. J1						
Observation J3						
Poids J3						
Observation J7						
Poids J7						
Observation J10						
Poids J10						

Suivi supplémentaire						Date et Initiales

Légende pour le suivi

Type d'observation : Déshydratation : D, Pelage : P, Dos vouté : DV, Respiration : R, Activité : Act, + : impact léger, ++ impact modéré, +++ impact sévère
Bon état général : BEG, stable : STA, rien à signaler : RAS