

PLATEFORME DE BIOLOGIE IN VIVO

PROCÉDURE NORMALISÉE DE FONCTIONNEMENT (PNF)

TITRE :		NO PNF :	
CONTRÔLE DU PROFIL BIOLOGIQUE DES SOURIS ISSUES DU SERVICE DE TRANSGÉNÈSE		800-STA-24	
DATE D'ENTRÉE EN VIGUEUR :	RÉVISION :	DATE :	PAGE :
2009-06-01	6	2023-12-18	1 DE 7

APPROBATION

DIRECTRICE DES OPÉRATIONS Manon Valiquette	SIGNATURE : 	DATE : 2023-12-18
CHEF DE SERVICE VÉTÉRINAIRE : Julie Gervais	SIGNATURE : 	DATE : 2023-12-18

PROCÉDURE NORMALISÉE DE FONCTIONNEMENT (PNF)			
TITRE : CONTRÔLE DU PROFIL BIOLOGIQUE DES SOURIS ISSUES DU SERVICE DE TRANSGÉNÈSE		NO PNF : 800-STA-24	
DATE D'ENTRÉE EN VIGUEUR : 2009-06-01	RÉVISION : 6	DATE : 2023-12-18	PAGE : 2 DE 7

TABLE DES MATIÈRES

1. INTRODUCTION
 - 1.1 Objectif
 - 1.2 Application
 - 1.3 Responsabilités
 - 1.4 Matériel

2. PROCÉDURES
 - 2.1 Services offerts en transgénèse
 - 2.2 Risque biologique relié à la production d'animaux
 - 2.3 Analyses et épreuves diagnostiques
 - 2.4 Précautions permettant de réduire le risque biologique

3. ARCHIVAGE
4. RÉFÉRENCES
5. ANNEXES/FORMULAIRES

PROCÉDURE NORMALISÉE DE FONCTIONNEMENT (PNF)			
TITRE : CONTRÔLE DU PROFIL BIOLOGIQUE DES SOURIS ISSUES DU SERVICE DE TRANSGÉNÈSE		NO PNF : 800-STA-24	
DATE D'ENTRÉE EN VIGUEUR : 2009-06-01	RÉVISION : 6	DATE : 2023-12-18	PAGE : 3 DE 7

1. INTRODUCTION

1.1 Objectif

Décrire les procédures utilisées pour l'évaluation du statut de santé des souris produites par le service de transgénèse (issues d'une modification par génie génétique, d'une redérivation à des fins d'assainissement ou de production de cohorte, ou ravigées d'une cryopréservation ne nécessitant pas d'assainissement) et destinés à un hébergement dans l'enceinte de la plateforme de biologie in vivo (PBIV).

La présente PNF a pour but de déterminer les lignes directrices afin que tout animal issu du service de transgénèse soit évalué, testé en conformité avec la liste d'exemption en vigueur pour le secteur SPF ou conventionnel de laPBIV, PNF 800-STA-01.

1.2 Application

Cette PNF est une directive de l'administration de la PBIV et doit être appliquée pour toutes les activités de la plateforme de transgénèse.

Lorsqu'une personne fait face à une situation où cette PNF ne peut être appliquée, elle doit immédiatement en aviser un des approbateurs de cette PNF.

1.3 Responsabilités

Les personnes responsables du contrôle du profil biologique de souris issues du service de transgénèse de l'IRIC sont spécifiées à même les sections ci-après décrivant les procédures à suivre.

De plus, chaque employé ou usager est responsable d'appliquer les procédures standards qui le concernent tel que décrit dans les PNF.

1.4 Matériel

1.4.1 Appareils / Instruments / Équipements :

- Seringues et aiguilles de grosseur appropriée
- Tubes collecteurs avec ou sans anticoagulant (héparine)
- Agent anesthésiant
- Appareil de contention
- Centrifugeuse
- Instruments de nécropsie
- Nécessaire à coprologie
- Boîte d'expédition pour les échantillons sanguins et cryosacs (ice packs)
- Boîte de transport pour animaux

PROCÉDURE NORMALISÉE DE FONCTIONNEMENT (PNF)			
TITRE : CONTRÔLE DU PROFIL BIOLOGIQUE DES SOURIS ISSUES DU SERVICE DE TRANSGÉNÈSE		NO PNF : 800-STA-24	
DATE D'ENTRÉE EN VIGUEUR : 2009-06-01	RÉVISION : 6	DATE : 2023-12-18	PAGE : 4 DE 7

1.4.2 Animal immunocompétent :

Souris femelle receveuse : CD-1 d'au moins 6 semaines lors de l'implantation

1.4.3 Documents

N/A

1.4.4 Formulaires spécifiques à cette PNF

-N/A

1.4.5 Autres PNF reliées

- 800-STA-08; Observations et examens cliniques chez les animaux
- 800-STA-11; Anesthésie des rongeurs
- 800-OPE-12; Utilisation de l'ESB pour changement de cages et manipulations d'animaux
- 800-OPE-13; Changement de cages dans une salle d'hébergement conventionnelle

2. PROCÉDURES

2.1 Services offerts par la transgénèse

L'une ou l'autre des techniques suivantes sont utilisées pour la création d'une lignée modifiée génétiquement : la micro-injection d'ADN ou de cellules souches, la fertilisation *in vitro* ou la modification génétique par technique CRISPR Cas9. De plus, la redérivation par transfert embryonnaire est fréquemment utilisée pour assainir une lignée dont le profil de santé n'est pas conforme aux critères d'admission et d'hébergement de la PBIV, selon la liste d'exemption de la PNF 800-STA-01. Il est aussi possible de raviver une lignée congelée (sperme ou embryons) ou de procéder à la fertilisation *in vitro* pour faciliter la création de cohortes expérimentales.

2.2 Risque biologique relié à la production d'animaux

2.2.1 Production d'animaux à faible risque biologique

Les animaux produits par les services de transgénèse et qui sont à faible risque d'être porteurs d'agents pathogènes, naissent dans la salle d'hébergement du service de transgénèse située dans le secteur SPF (salle : S2-138-4). Ces animaux font l'objet d'une surveillance de santé par le biais du programme de suivi du statut de santé et de tests de santé effectués sur les mères porteuses et les souriceaux.

- a. Animaux issus d'une FIV dont les géniteurs sont issus du secteur SPF de la PBIV.
- b. Animaux ravivés de la cryopréservation ne nécessitant pas d'assainissement, puisque les géniteurs sont issus du secteur SPF de la plateforme.

PROCÉDURE NORMALISÉE DE FONCTIONNEMENT (PNF)			
TITRE : CONTRÔLE DU PROFIL BIOLOGIQUE DES SOURIS ISSUES DU SERVICE DE TRANSGÉNÈSE		NO PNF : 800-STA-24	
DATE D'ENTRÉE EN VIGUEUR : 2009-06-01	RÉVISION : 6	DATE : 2023-12-18	PAGE : 5 DE 7

- c. Animaux modifiés par génie génétique (micro-injection d'un gène ou d'un transgène, micro-injection de cellules souches) suite à l'utilisation de matériel biologique provenant du secteur SPF de la PBIV ou ayant été testé et prouvé exempt de pathogènes murins (voir PNF 800-STA-01).

2.2.2 Production d'animaux à risque biologique plus élevé

Les souris, les embryons ou le sperme, en provenance de fournisseur non commercial, sont admis selon les normes de la PNF 800-STA-01 en vue d'une redérivation. Les manipulations en vue de la redérivation sont effectuées par les services de transgénèse dans un espace de laboratoire dans le secteur quarantaine. Les souris ainsi redérivées naissent dans la quarantaine propre (salle S2-324-3). Des tests de santé sont effectués sur la mère porteuse et/ou les souriceaux. Suite à la réception des résultats et à l'approbation du vétérinaire, les animaux peuvent être transférés vers un autre secteur d'hébergement ou transportés dans une autre animalerie de recherche. Analyses et épreuves diagnostiques

2.3.1 Production d'animaux à faible risque biologique

La femelle receveuse donne naissance à une portée de souriceaux dont elle aura soin jusqu'au sevrage. Le sevrage se fait habituellement à l'âge de 21 jours. À la fin de la période de 5 semaines suivant la naissance, la femelle est utilisée pour effectuer les tests de santé prescrits par le vétérinaire ou son délégué (PNF 800-STA-01, annexe 4). Les tests de santé effectués sur les mères porteuses hébergées dans la salle d'hébergement des services de transgénèse (S2-138-4) située dans le secteur SPF consistent en:

- Sérologie des virus prévalents (incluant MNV, parvovirus et chapparovirus);
- PCR sur les fèces pour Hélicobacter et MNV

De façon alternative, un panel PCR pour les agents infectieux prévalents peut être effectué. Ce dernier permet de combiner les échantillons provenant des mères porteuses et des cages de souriceaux sevrés, jusqu'à un maximum de 10 échantillons.

Le programme de suivi du statut de santé est également utilisé dans la salle d'hébergement de la transgénèse selon la PNF 800-STA-05 dans les supports hébergeant les animaux en colonie, les souris de provenance commerciale en attente de manipulation et les mâles vasectomisés. Ceci permet ainsi une surveillance supplémentaire.

PROCÉDURE NORMALISÉE DE FONCTIONNEMENT (PNF)			
TITRE : CONTRÔLE DU PROFIL BIOLOGIQUE DES SOURIS ISSUES DU SERVICE DE TRANSGÉNÈSE		NO PNF : 800-STA-24	
DATE D'ENTRÉE EN VIGUEUR : 2009-06-01	RÉVISION : 6	DATE : 2023-12-18	PAGE : 6 DE 7

2.3.2 Production d'animaux à risque biologique plus élevé

Les tests de santé de base effectués sur les mères porteuses hébergées dans la quarantaine propre consistent en :

- Nécropsie;
- Parasitologie interne;
- Parasitologie externe;
- Culture bactérienne du système respiratoire supérieur;
- Sérologie des virus prévalents (incluant MNV et parvovirus);
- PCR sur les fèces pour *Helicobacter* et MNV;
- PCR sur les nœuds lymphatiques mésentériques ou la rate pour parvovirus.

Ces tests sont inscrits à l'Annexe 4 de la PNF 80-STA-01 par le vétérinaire ou son délégué pour chaque groupe d'animaux concernés. Des tests supplémentaires peuvent être requis, selon les recommandations du vétérinaire.

2.3 Précautions permettant de réduire le risque biologique

Lors de la manipulation d'embryons, certaines précautions doivent être prises afin de réduire le risque de transmission d'agents pathogènes (incluant MPV et MVM). Le milieu de lavage doit être constitué de 5000 IU/ml de Penicilline et de Streptomycine. Les lavages des embryons doivent se faire de façon stérile. Il faut obligatoirement changer de pipette entre chaque lavage et s'assurer de garder les embryons ayant une zone pellucide intacte afin de réduire les risques au minimum. Si des embryons au stade e0.5 sont utilisés, s'assurer de bien digérer les cellules du cumulus pour qu'aucun pathogène ne s'y colle. Il est recommandé de diluer les embryons par un facteur de 1×10^{20} afin de respecter les recommandations émises par « The International Embryo Transfert Society (Stringfellow, 1998) ». Lorsque toutes ces recommandations sont respectées, il est possible de réimplanter les embryons dans des femelles receveuses. Il est également possible d'utiliser des embryons à différents stades (e0.5 à e3.5). Par contre, même en suivant toutes ces précautions, un faible risque de transmission demeure pour certains pathogènes tel que les parvovirus murins (MPV et MVM). Une analyse PCR du dernier liquide de lavage afin de confirmer l'absence de matériel génétique relié au parvovirus murin peut être effectuée selon les recommandations du vétérinaire.

3. ARCHIVAGE

Tous les certificats de santé, certificats d'analyse et formulaire remplis pour les besoins du contrôle biologique des souris issues des services de transgénèse doivent être signés par le vétérinaire et archivés (copie papier et/ou électronique) par le responsable des services de transgénèse ou le responsable de l'archivage des bilans de santé des animaux de la PBIV.

PROCÉDURE NORMALISÉE DE FONCTIONNEMENT (PNF)			
TITRE : CONTRÔLE DU PROFIL BIOLOGIQUE DES SOURIS ISSUES DU SERVICE DE TRANSGÉNÈSE		NO PNF : 800-STA-24	
DATE D'ENTRÉE EN VIGUEUR : 2009-06-01	RÉVISION : 6	DATE : 2023-12-18	PAGE : 7 DE 7

4. RÉFÉRENCES

Fox, J., Anderson, L. & Loew, F., *Laboratory Animal Medicine (ACLAM)*, 2^e édition, Academic Press, 2002, p.

Hrapkiewicz, K. , Medina, L., Holmes, D., *Clinical laboratory animal medicine an introduction*, 2^e édition, Iowa State University Press, 1998, p. 246-247.

National Research Council, *Infectious Diseases of Mice and Rats*, National Academy Press, 1991, p.21-27.

Cornell University, Cornell Center for Animal Resources and Education, Care 509.01 : *Animal Acquisition, Receiving and Acclimatation*, <http://www.research.cornell.edu/care/CARE509.pdf>, 2005.

Lydia M. Janus et al, 2009. Risk Assessment of Minute Virus of Mice Transmission During Rederivation : Detection in Reproductive Organs, Gametes, and Embryos of Mice after In Vivo Infection. *Biology of Reproduction* 81, 1010-1015

E. Mahabir, et al, 2007. Production of Virus-Free Seronegative Pups from Murine Embryos Arising from In Vitro Fertilisation with Mouse Minute Virus-Exposed Spermatozoa. *Biology of Reproduction* 78, 53-58

Van Keuren ML, Saunders TL 2004.Rederivation of transgenic and gene-targeted mice by embryo transfer *Transgenic Res.* Aug;13(4):363-71.

5. ANNEXES/FORMULAIRES

N/A