



UNIVERSITÉ
LAVAL

Direction des services vétérinaires

Procédure normalisée de fonctionnement

Objet : Modèle d'accident vasculaire cérébrale (AVC) lacunaire et micro-occlusion (MO) chez la souris	Numéro : M-11
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 et des centres de recherche affiliés.	
Préparée par les techniciennes en santé animale – conformité <i>Direction des services vétérinaires, Université Laval</i>	Date : 27 novembre 2020
Modifiée par les techniciennes en santé animale – conformité <i>Direction des services vétérinaires, Université Laval</i>	Date : 5 juin 2024
Révisée par : Les vétérinaires de la DSV et <i>Direction des services vétérinaires, Université Laval</i> Équipe de recherche Ayman El Ali <i>Centre de recherche, CHU de Québec</i>	Date : 10 juin 2024
But : Décrire les procédures pour le modèle AVC lacunaire et micro-occlusions (MO) chez la souris	Version 2

Généralités

- Ce modèle a été développé afin de mimer les micro-occlusions et accidents vasculaires cérébraux ischémiques lacunaires et est hautement reproductible.
- « Tous les utilisateurs d'animaux doivent avoir les connaissances théoriques et les habiletés pratiques nécessaires pour accomplir leurs tâches en faisant preuve de compétence. » (*Tiré des Lignes directrices du CCPA sur : la formation du personnel qui travaille avec des animaux en science.*)
- Le maintien de la température corporelle de l'animal durant la chirurgie est essentiel vu les effets potentiels sur l'étendue de l'infarctus et la dilatation des vaisseaux. Également, l'hypothermie pourrait mener à une inconsistance dans le dommage causé par les AVC lacunaire.
- Il est primordial de ne pas endommager le nerf vague lors de la chirurgie afin de diminuer les risques post-chirurgicaux et pour observer l'effet des AVC lacunaires plutôt qu'une lésion du nerf.
- Un Doppler peut être utilisé pour confirmer qu'il y a eu une occlusion pendant la chirurgie
- Un taux de mortalités subites de 5 à 10 % peut être observé en période postopératoire aiguë.

Procédure

Acclimatation

- Offrir une période d'acclimatation de 3 jours à 5 jours à la nourriture humide et au DietGel® Boost. Faire de même avec les bouteilles d'eau si les souris sont hébergées dans des cages avec système d'automatisé.

Préparation de l'animal

- Peser l'animal.
- Administrer de la buprénorphine SR (0,5 mg/kg) par voie sous-cutanée un minimum de 30 minutes avant le début de la chirurgie.
- Anesthésier l'animal à l'isoflurane conformément à la PNF A-1 : Analgésie et anesthésie des rongeurs.
- Appliquer l'onguent ophtalmique et administrer 1 ml de lactate de Ringer réchauffé sous-cutané.
- Installer l'animal en décubitus dorsal sur une source de chaleur réglementaire selon la PNF A-1 Analgésie et anesthésie des rongeurs.
- Raser de la portion ventrale du cou. Retirer les poils et nettoyer la zone rasée avec un antiseptique (chlorhexidine 0,5%).
- **Avec Doppler :**
 - Installer l'animal en décubitus ventral pour le rasage du crâne. Retirer les poils et nettoyer la zone rasée avec un antiseptique (chlorhexidine 0,5%).
 - Faire un bloc local aux sites d'incision (crâne et cou) en administrant un mélange de lidocaïne et de bupivacaïne réchauffé selon le volume et la concentration en vigueur (voir la PNF A-1 : Analgésie et anesthésie des rongeurs) selon les concentrations en vigueur.
- **Sans Doppler :**
 - Faire un bloc local au site d'incision (cou) en administrant un mélange de lidocaïne et de bupivacaïne réchauffé selon le volume et la concentration en vigueur (voir la PNF A-1 : Analgésie et anesthésie des rongeurs) selon les concentrations en vigueur.
- Transférer l'animal dans la zone opératoire.

Chirurgie

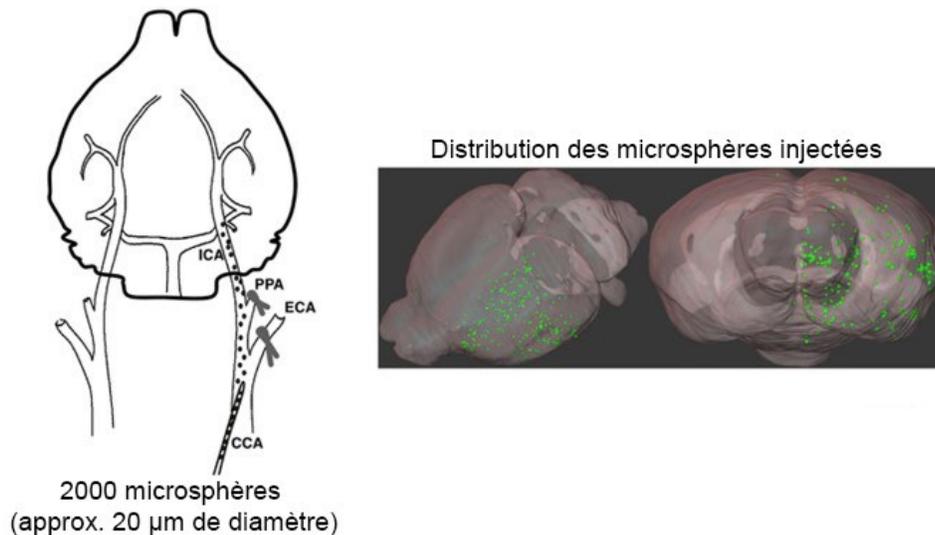
- Vérifier et ajuster la profondeur de l'anesthésie conformément à la PNF A-1 : Analgésie et anesthésie des rongeurs.
- Préparer le site chirurgical au niveau du cou selon la PNF C-1 Chirurgie aseptique chez les rongeurs.
- **Avec Doppler :**

- Déposer l'animal en décubitus ventral sur un champ stérile.
- Préparer le site chirurgical au niveau du crâne selon la PNF C-1 : Chirurgie aseptique chez les rongeurs.
- Effectuer toutes les procédures suivantes en respect de l'asepsie selon la PNF C-1.
- **Avec Doppler :**
 - Placer un champ opératoire stérile sur le corps de l'animal en ne laissant que la tête exposée.
 - Sous microscopie, effectuer une incision cutanée médiane d'environ 0.5 cm sur la partie gauche du crâne.
 - Rétracter le périoste sur les bords de la boîte crânienne.
 - Insérer sur le crâne une sonde en fibre de verre (fibre optique) liée au laser Doppler flow et stabiliser la sonde avec une petite goutte de colle chirurgicale.
 - Retirer le champ stérile et retourner l'animal en décubitus dorsal.
- Placer un champ stérile sur l'animal en gardant une ouverture pour exposer uniquement la zone ventrale du cou préalablement rasée.
- Sous microscopie, effectuer une incision médiane d'environ 1 cm au niveau du cou.
- **Avec Doppler :**
 - Mettre la boîte de Doppler liée à la sonde en marche pour enregistrer les valeurs du débit sanguin cérébral et confirmer les micro-occlusions (une variation de 5 à 10% du débit sanguin cérébral indique le succès des micro-occlusions).
- Effectuer une dissection moussée pour localiser et exposer l'artère carotide commune (CCA), l'artère carotide externe (ECA) et l'artère carotide interne (ICA) gauches selon la localisation de l'image 1.
- Ligaturer temporairement l'artère carotide externe à son origine avec une suture de soie 7-0 ou un clip vasculaire pour éviter les saignements lors de l'injection des microsphères.
- Ligaturer temporairement le segment ptérygo-palatine de l'artère maxillaire avec une suture de soie 7-0 ou un clip vasculaire, juste après la bifurcation de l'artère carotide commune, laissant ainsi l'artère cérébrale interne non bloquée afin que les microsphères se rendent dans l'hémisphère gauche.
- À l'aide d'une seringue montée avec une aiguille de 33G, injecter 100ul de saline contenant les microsphères (2500 pour une souris de 25 grammes).
- Retirer l'aiguille et placer immédiatement une éponge de gélatine absorbable (Gelfoam) sur l'artère pour prévenir les saignements.
- Retirer les ligatures ou les clips vasculaires selon le cas.
- Fermer l'incision au niveau du cou selon la PNF C-10 : Matériel et techniques de suture en utilisant des points simples discontinus, une suture simple continue ou

une suture intradermique pour la peau. Les techniques de suture autorisées doivent être acquises à la DSV.

- **Avec Doppler :**
 - Retirer le champ opératoire et installer l'animal en décubitus ventral.
 - Placer un champ opératoire sur le corps de l'animal et retirer délicatement la sonde positionnée sur le crâne ainsi que le point de colle à l'aide d'une pince stérile.
 - Refermer l'incision selon la PNF C-10 : Matériel et techniques de suture.
- Surveiller en tout temps la température de l'animal afin que celle-ci demeure entre 36,5 et 37,5 degrés Celsius.

Image 1. Schéma des vaisseaux sanguins d'intérêt et de la procédure expérimentale



Crédit : Modifiée de *Silasi et al., 2015; J Cereb Blood Flow Metab 35:734-8*

Période postopératoire immédiate (≤ 1 heure post-chirurgie)

Avant le réveil de l'animal :

- Administrer 1 ml de lactate de Ringer réchauffé par voie sous-cutanée.
- Administrer du carprofen (10 mg/kg) par voie sous-cutanée.
- Couper la pointe des griffes des membres postérieurs avec un petit ciseau ou coupe-griffe.

Au réveil de l'animal :

- Transférer l'animal dans une cage propre ainsi que son nid. Prévoir une source de chaleur sous la moitié de la cage.
- Remplir le carton de suivi postopératoire et l'apposer sur la cage de l'animal ou des animaux.
- Retourner l'animal dans sa cage initiale lorsqu'il est en décubitus sternal et capable de se déplacer par lui-même de manière stable.

Suivi de la condition (≥ 1 heure et plus suivant la chirurgie)

- Effectuer un suivi quotidien du poids et de l'état de chair de l'animal à l'aide du tableau 1 et remplir le formulaire de suivi de santé en Annexe 1.

Tableau 1 : Suivi de perte de poids¹

Pourcentage de perte de poids par rapport au poids initial	Suivi de l'état de chair	Actions
0 à 14,9 %	État de chair > 2/5	Nourriture humide DietGel Boost® Injection de 1ml LRS SID
15 à 19,9 %	État de chair > 2/5	Nourriture humide DietGel Boost® Injection de 1ml LRS BID
20 % et plus	< 2/5	Euthanasie

¹Sans atteindre aucun autre point limite et sans autres signes cliniques associés

- Administrer les soins de support décrit dans le tableau 1 jusqu'à la reprise du poids initial et d'un état de chair ≥ 3 ou jusqu'à stabilisation du poids pendant 72 heures consécutives et en respect de la PNF ETH- 10 (état de chair supérieur à 2).
- Pour aider à la récupération post opératoire, les cages peuvent être laissées en statique jusqu'à la stabilisation du poids. Ensuite les cages doivent être retournées dans un support ventilé.
- L'équipe de recherche s'occupe des suivis et des soins post-opératoires les J1 à J3 puis, le personnel de soins prend le relais à partir du J4.
- Administrer 1ml de lactate de Ringer les trois premiers jours suivant la chirurgie.
- Vérifier l'hydratation des animaux quotidiennement jusqu'à l'arrêt du suivi de poids. En cas de déshydratation ou tout autre problème de santé (écoulement oculaire, déhiscence de plaie, etc.) aviser rapidement le technicien en santé animale pour la mise en place des traitements appropriés en consultation avec l'équipe de recherche et le médecin vétérinaire au besoin. Veuillez-vous référer à la PNF TX-1 dans ces cas.

- Examiner la plaie quotidiennement pour les 7 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 sutures cutanées 7 à 10 jours après la chirurgie.

Point limite scientifique

- 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 :
 - Qui présente des signes neurologiques sévères après 24 heures postopératoires : activité absente, immobilité, décubitus latéral, déplacements difficiles.

Points d'intervention éthique

- 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 l'un des signes cliniques suivant :
 - Un état de chair de 2/5 ou moins associé à une perte de poids de 20 % et plus.
 - Qui présente un état de chair de 1/5.
 - En respect de la PNF ETH-10 pour toutes autres conditions non spécifiques au modèle.

Références

T. Chiang, R. O. Messing, W. Chou, *Mouse Model of Middle Cerebral Artery Occlusion*, J Vis Exp. 2011; (48): 2761.

F. Fluri, M. Schuhmann, and C. Kleinschnitz, *Animal models of ischemic stroke and their application in clinical research*, Drug Des Devel Ther. 2015; 9: 3445–3454.

Mises à jour de la PNF		
Version 2	5 juin 2024	Précision réveil et suivi de l'animal Ajout du formulaire de suivi de santé en annexe 1 Ajout de la charte de perte de poids (tableau 1) Ajout points d'intervention éthique Ajout point d'intervention scientifique

Annexe 1 :

Formulaire de suivi de santé



SUIVI MODÈLES LONGITUDINAUX - Souris MO

Cage # _____

Chercheur :			Protocole :					Date de chirurgie :					Responsable :				
ID	Poids	Observations et traitements	J Date / Init.														
	PD: (J-O)	Poids (g)															
		État de chair (/5)															
		% perte / gain															
		Suivi de plaie	<input type="checkbox"/>														
		Observations, Signes de douleurs, Autres conditions															
	PD - 20%:	Déshydratation	Absente <input type="checkbox"/> Présente <input type="checkbox"/>														
		Injection LRS (1ml) ²	SID <input type="checkbox"/> BID <input type="checkbox"/>	SID <input type="checkbox"/> BID <input type="checkbox"/>													
		Suivi vétérinaire	OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/>														
		Traitement prescrit															
		Nourr.Hum. + DietGel®Boost	<input type="checkbox"/>														
ID	Poids	Observations et traitements	J Date / Init.														
	PD: (J-O)	Poids (g)															
		État de chair (/5)															
		% perte / gain															
		Suivi de plaie	<input type="checkbox"/>														
		Observations, Signes de douleurs, Autres conditions															
	PD - 20%:	Déshydratation	Absente <input type="checkbox"/> Présente <input type="checkbox"/>														
		Injection LRS (1ml) ¹	SID <input type="checkbox"/> BID <input type="checkbox"/>														
		Suivi vétérinaire	OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/>														
		Traitement prescrit															
		Nourr.Hum. + DietGel®Boost	<input type="checkbox"/>														

Légende : ¹ Administrer 1ml de lactate de Ringer (LRS) les trois premiers jours suivant la chirurgie. // Entre 0 et 14,9% de perte de poids administrer 1 ml LRS SID + suppléments alimentaires. // Entre 15 et 19,9% de perte de poids administrer 1 ml LRS BID + suppléments alimentaires.

Administrer les soins de support décrits jusqu'à la reprise du poids initial et d'un état de chair ≥ 3 ou jusqu'à stabilisation du poids pendant 72 heures consécutives.

Note : En cas de déshydratation ou tout autre problème de santé (écoulement oculaire, déhiscence de plaie, etc.) aviser rapidement le technicien en santé animale.

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