

But

- Décrire les méthodes de stérilisation du matériel destinés aux colonies axéniques à l'animalerie du CRCHU de Québec – Université Laval.

Généralités

- Les techniciens et techniciennes de l'animalerie qui travailleront avec les souris axéniques doivent préalablement suivre une formation pratique donnée par un technicien qualifié.
- Le concept de base pour le maintien d'une colonie de type axénique est la prévention de la contamination. Cette prévention se fait notamment par la stérilisation de tout le matériel à l'aide de la vapeur d'eau (autoclave), de l'irradiation, de la stérilisation de surface ou de la stérilisation au gaz.

Matériel

- Stérilisant froid à base de dioxyde de chlore (Clidox ou Alcide).
- Stérilisateur autoclave
- Stérilisateur à l'oxyde d'éthylène
- Cylindre de stérilisation
- Ruban autocollant indicateur de stérilisation pour l'autoclave et l'oxyde d'éthylène
- Bande témoin pour autoclave
- Bande témoin pour l'oxyde d'éthylène
- Test biologique pour autoclave « Verify Dual species » de Steris
- Ampoule test Sterifirm
- Ruban autocollant Mylar
- Ruban autocollant de vinyl
- Membrane Mylar en rouleau
- Membrane filtre de stérilisation en rouleau
- Sacs de papier et sacs de papier perforés
- Sac en filet stérilisable
- Crayon feutre
- Enveloppes de stérilisation

Formulaires ou PNF reliés à cette procédure

- CHU-HEB-07 : Hébergement de souris axénique
- CHU-FON-10 : Méthode de travail en isolateur semi-rigide

- CHU-FON-11 : Mise en service d'un isolateur pour souris axéniques
- CHU-CQ-08 : Méthode de contrôle du statut axénique

Définitions

- **Axénique** : Se dit d'un élevage ou d'un animal exempt de bactéries, virus, fungus ou parasites (à l'exception des virus endogènes). Ces animaux doivent être hébergés en conditions stériles complètes.

Responsabilités

- Toute personne (TSA) travaillant avec les isolateurs permettant l'hébergement de souris axéniques doit respecter cette procédure et communiquer avec l'assistant-chef de dérivation pour toute question.

Consignes

I. Nourriture :

- 1- Stériliser la nourriture à l'autoclave à une température de 132 °C pour 25 minutes dans des sacs de papier perforés, placés dans le cylindre de stérilisation.
- 2- Mettre un sac de nourriture témoin marqué d'un X, au centre de chaque charge de stérilisation. Ce sac doit contenir, au milieu de la nourriture, une bande indiquant que la température et le temps ont été respectés ainsi qu'un test biologique « Verify® » qui sera incubé pour une période de 48 heures avant que le lot de nourriture soit utilisé.

II. Eau :

- 1- Utiliser l'eau osmose inversée ou déminéralisée.
- 2- Stériliser à l'autoclave dans des bouteilles propres de 2 litres, en utilisant les bouchons de néoprène conçus pour cette application. Mettre seulement 1800ml pour éviter les débordements.
- 3- Faire tremper les bouchons de néoprène 20 minutes dans l'eau chaude avant de les utiliser afin d'obtenir une bonne étanchéité.
- 4- Mettre une bouteille d'eau témoin avec un indicateur stérifirm (de couleur rouge) qui passe au vert lorsque la température et le temps de contact ont été respectés. Cette bouteille témoin doit être placée au centre du lot de bouteilles à faire stériliser et ne sera pas utilisée dans les isolateurs.
- 5- Stériliser pour une période de 60 minutes à une température de 125 oC
- 6- Confirmer la stérilisation en observant l'indicateur Sterifirm (vert).
- 7- Confirmer l'étanchéité des bouchons des deux manières suivantes :
 - A- Un bouchon concave indique que la bouteille est bien passée à l'autoclave et que le saut n'a pas été brisé.
 - B- Mettre la bouteille à l'envers, si des bulles d'air remontent à la surface, la stérilité de l'eau est compromise par l'entrée d'air.

C- Dans les deux cas, jeter l'eau et le bouchon. Inspecter l'ouverture de la bouteille pour voir si elle n'est pas brisée et recommencer le processus.

III. Litière, matériel de nidification et enrichissement :

- 1- Stériliser la litière, le matériel de nidification et l'enrichissement à l'autoclave à une température de 132 °C pour 25 minutes dans des sacs de papier perforés, placés dans le cylindre à stérilisation.
- 2- Mettre un sac témoin marqué d'un X au centre de chaque charge de stérilisation. Ce sac doit contenir, au milieu de la nourriture, une bande indiquant que la température et le temps ont été respectés ainsi qu'un test biologique « Verify® » qui sera incubé pour une période de 48 heures avant que le lot de nourriture soit utilisé.

IV. Cages, grillages, bouteilles et bouchons pour l'eau d'abreuvement :

- 1- Faire une stérilisation à l'autoclave suivie d'une stérilisation de surface au moment de la mise en fonction de l'isolateur par un brossage de chaque surface avec une serviette ou une brosse imbibée de stérilisant froid (Clidox ou Alcide).
- 2- Selon les besoins, ces articles peuvent également être stérilisés, en petites quantités, à l'autoclave dans le cylindre de stérilisation.

V. Filtres HEPA :

- 1- Stériliser les filtres à l'oxyde d'éthylène avant la mise en service de l'isolateur et stériliser à la vapeur de stérilisant froid (Clidox ou Alcide) au moment de la stérilisation de l'isolateur.

VI. Matériel autre allant à l'autoclave:

- 1- Stériliser à l'autoclave tout autre matériel pouvant subir les températures et le temps requis et pouvant entrer dans le cylindre à stérilisation. Exemple : Balance Pesola, pince, tubes à échantillon, crayon de bois ou crayon gras, carton de cages etc.

VII. Matériel autre n'allant pas à l'autoclave:

- 1- Stériliser à l'oxyde d'éthylène tout autre matériel ne pouvant subir les conditions d'autoclavage.
- 2- Le matériel doit avoir un double emballage et ne doit pas être destiné à l'utilisation dans les isolateurs d'hébergement. Cette méthode est strictement réservée aux équipements optiques et électroniques comme le microscope, l'éclairage à fibre optique destiné à l'isolateur « laboratoire ».

VIII. Matériel stérilisé par irradiation :

- 1- Stériliser l'extérieur de l'emballage par l'utilisation d'un stérilisant à froid (Clidox ou Alcide) par trempage.
- 2- Vérifier la présence de trous suite au trempage.

IX. Assemblage et chargement du cylindre.

- 1- Placer le cylindre propre à l'horizontale sur une table propre et couvrir la portion perforée avec un minimum de deux épaisseurs de papier filtre DW-4 HEPA recouvert d'un grillage protecteur. Fixer le tout à l'aide de ruban adhésif de vinyle et apposer un bout de ruban indicateur de stérilisation.
- 2- Placer un sac en filet à l'intérieur du cylindre. Le surplus du sac est enfilé sur le cylindre lui-même en attendant sa fermeture.
- 3- Disposer le matériel de façon assez aéré dans le sac en filet pour permettre la circulation de la vapeur et une bonne stérilisation. Un sac de nourriture ou litière témoin marqué d'un « X » contenant une bande indicatrice ainsi qu'un test biologique « Verify® » doit être installé au centre du chargement.
- 5- Charger le cylindre en fonction des besoins de l'isolateur pour lequel il est destiné. Une fois le cylindre plein, fermer le sac en filet et fixer la corde sur le côté intérieur du cylindre de façon à ce qu'elle soit facile à atteindre lors de l'entrée du matériel dans l'isolateur.
- 6- Mettre un indicateur à l'intérieur du cylindre fixé à la corde du sac en filet. Refermer le cylindre avec une membrane Mylar bien tendue et fixée hermétiquement à l'aide du ruban adhésif style électrique.
- 7- Faire attention de ne pas trop remplir le cylindre. Le sac en filet contenant le matériel à stériliser ne doit pas exercer de pression sur la membrane Mylar.
- 8- Suite à la stérilisation, diriger le cylindre vers la salle hébergeant l'isolateur pour lequel le cylindre a été chargé et stérilisé.
- 9- Une attention particulière est portée à la membrane filtre et à la membrane Mylar pour éviter les perforations.

Références

- Park BioServices, « Online Training Site and Germfree Workshops ».
- Taconic Biosciences "Flexible Film Isolator Demo"
- Taconic Biosciences "Semi-Rigid Isolator Demo"
- Livre "Gnotobiotic Mouse Technology an illustrated guide"

	<u>Modifications apportées</u>
Version 2 26 juin 2023	• Ajout de la procédure CHU-HEB-07 : Hébergement de souris axénique