



Canadian Council on Animal Care
Conseil canadien de protection des animaux



Lignes directrices du CCPA : les souris

Date de publication : Août 2019

© Conseil canadien de protection des animaux, 2019

ISBN: 978-0-919087-78-1

Conseil canadien de protection des animaux
190, rue O'Connor, bureau 800
Ottawa (Ontario) K2P 2R3

<http://www.ccac.ca>

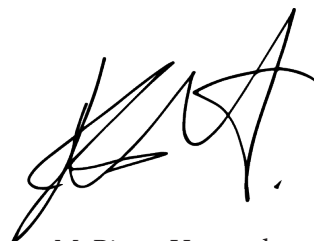
REMERCIEMENTS

Le conseil d'administration du Conseil canadien de protection des animaux (CCPA) remercie vivement les membres du sous-comité sur les souris qui ont mis leur expertise et leurs efforts à contribution dans l'élaboration des lignes directrices, et toutes les personnes qui ont proposé des suggestions essentielles au cours des deux périodes d'examen du document. Le conseil remercie également les membres du comité des normes et du comité d'évaluation et de certification qui ont fourni au sous-comité des conseils importants, et l'équipe de projet du Secrétariat du CCPA pour son excellent travail. Le conseil tient également à remercier la docteure Hélène Héon, du Centre de recherche du Centre hospitalier de l'Université de Montréal, pour la vérification de la version française.

Le CCPA adresse ses sincères remerciements à ses bailleurs de fonds, les Instituts de recherche en santé du Canada (IRSC) et le Conseil de recherches en sciences naturelles et en génie (CRSNG), pour leur généreux soutien financier. Sans leur appui, le CCPA ne pourrait s'acquitter de son mandat actuel.



Dre Eileen Denovan-Wright
Présidente du conseil d'administration du CCPA



M. Pierre Verreault
Directeur général du CCPA

SOUS-COMITÉ SUR LES SOURIS

Dre Tamara Godbey, présidente
Dr Robert Gendron, Memorial University
Dre Hélène Héon, Centre de recherche du Centre hospitalier de l'Université de Montréal
Dre Patricia Turner, Charles River Laboratories
Dr René St. Arnaud, Université McGill
Mme Evelina Smith

RÉVISEURS EXTERNES

Les commentaires reçus pendant les deux périodes d'examen du document ont été intégrés dans la présente version. En tout, dix-huit réviseurs provenant de neuf organismes canadiens des secteurs privé et public ou encore d'établissements collégiaux et universitaires ainsi que cinq examinateurs de l'extérieur du Canada ont participé au premier examen, et treize réviseurs provenant de douze établissements canadiens ainsi qu'un de l'extérieur du Canada, ont pris part au second examen. À noter qu'une personne a participé aux deux examens.

COMITÉ DES NORMES

Dr Stan Boutin, University of Alberta
Dr Philip Byrne, Pêches et Océans Canada
Dre Eileen Denovan-Wright, Dalhousie University
Dr Nicolas Devillers, Agriculture et Agroalimentaire Canada
M. Dan Fryer, Rural Animal Management Services
Mme Lesley Howes, Canadian Wildlife Service
Dr Christopher Kennedy, University of Ottawa
Dre Lyne Letourneau, Université Laval
Dr Scott MacDougall-Shackleton, University of Western Ontario
Dre Joanna Makowska, University of British Columbia
Dr Gordon Mitchell, Agence canadienne d'inspection des aliments
Dre Elisabeth Ormandy, University of British Columbia
Dre Toolika Rastogi, Animaux Canada
Dr Albrecht Schulte-Hostedde, Université Laurentienne
Dr Keith Sharkey, University of Calgary
Dr James Sherry, Environnement et Changement climatique Canada
Dr Jason Treberg, University of Manitoba
Dre Patricia Turner, Charles River Laboratories
Dr Andrew Winterborn, Queen's University

COMITÉ D'ÉVALUATION ET DE CERTIFICATION

Dre Catherine Breault, Charles River Laboratories Preclinical Services Sherbrooke Inc.
Dr Philip Byrne, Pêches et Océans Canada
Mme Ann Carlsen, Ann Carlsen & Company
Dr Will Costain, Conseil national de recherches Canada
M. Shawn Eccles, British Columbia Society for the Prevention of Cruelty to Animals
Mme Mireille Focquet, DersamGlobal
Dr James Gilchrist, University of Manitoba
Mme Karen Gourlay, McMaster University
Dr Christopher Guglielmo, University of Western Ontario
Dre Hélène Héon, Centre de recherche du Centre hospitalier de l'Université de Montréal
Dr Ovidiu Jumanca, Institut de recherches cliniques de Montréal
Mme Simone Kerswell, University of Alberta
M. Bill McDonald, University of Manitoba's Bannatyne Campus Animal Protocol Committee
Dr Tom Moon, Université d'Ottawa
Dre Martha Navarro, Santé Canada
Dr Shawn Petrik, Vivocore Inc.
Mme Adriane Porcin, University of Manitoba
Dr Hugh Semple, Recherche et développement pour la défense Canada, Centre de recherches de Suffield
M. Jacques Thibault, Collège communautaire du Nouveau-Brunswick

ÉQUIPE DE PROJET DU SECRÉTARIAT

Équipe des normes

Mme Julie Dale, chargée de projet, directrice de l'élaboration des normes

Mme Wendy Clarence, analyste de recherche

Mme Jumoke Fasoyinu, coordonnatrice des normes et de la révision

Dre Gilly Griffin, directrice des normes

Aide supplémentaire

Mme Felicetta Celenza | gestionnaire de projets et coordonnatrice des événements

Dre Sylvie Cloutier | directrice adjointe des évaluations

Mme Sandra MacInnis | directrice des affaires publiques et des communications

Mme Charlotte Tellier | traductrice scientifique

Mme Emily Verlinden | coordonnatrice du graphisme et de la révision

TABLE DES MATIÈRES

PRÉFACE.....	1
SOMMAIRE DES PRINCIPES DIRECTEURS.....	2
1. INTRODUCTION	6
1.1 Biologie comportementale.....	7
1.2 Capacités sensorielles	8
1.3 Anatomie et physiologie.....	9
1.4 Sources de variations	9
1.4.1 Souches consanguines ou non	9
1.4.2 Différences individuelles : sexe, état de santé, microbiome	10
1.4.3 Effets de l'environnement et de l'expérience de vie.....	11
2. ANIMALERIES	12
2.1 Hébergement	12
2.1.1 Types de cages.....	12
2.1.2 Cages métaboliques.....	19
2.2 Installations chirurgicales	19
2.3 Installations dédiées pour la production de souris génétiquement modifiées	20
3. GESTION DES INSTALLATIONS ET DU PERSONNEL	21
3.1 Gestion de l'environnement.....	21
3.1.1 Éclairage.....	21
3.1.2 Température et humidité relative	23
3.1.3 Qualité de l'air et ventilation	24
3.1.4 Bruit et vibrations.....	25
3.2 Personnel.....	26
4. ACQUISITION	27
4.1 Source	27
4.2 Registres	27
4.3 Expédition et réception	28
4.4 Transport.....	28
4.4.1 Conditions d'expédition.....	28
4.4.2 Transport de souris d'un établissement à l'autre.....	29
4.4.3 Transport de souris au sein d'un établissement.....	30
4.5 Réception des souris.....	30
4.6 Acquisition de souris utilisées comme nourriture	31

5. ÉLEVAGE	32
5.1 Surveillance et tenue de registres	32
5.2 Identification des animaux d'élevage	33
5.3 Considérations pour la gestion de l'élevage	34
5.3.1 Systèmes d'élevage.....	35
5.3.2 Âge de reproduction	36
5.3.3 Sevrage	36
5.3.4 Fécondation post-partum.....	36
5.3.5 Cryoconservation	37
5.4 Facteurs influant sur l'élevage	37
5.4.1 Facteurs environnementaux.....	37
5.4.2 Influence de l'hébergement et des soins	38
5.5 Problèmes de santé	38
5.6 Génotypage.....	39
6. SOINS ET GESTION	40
6.1 Identification des animaux	40
6.2 Gestion de l'hébergement	40
6.2.1 Hébergement en groupes.....	41
6.2.2 Hébergement individuel.....	42
6.3 Nourriture, eau et litière.....	42
6.3.1 Nourriture	42
6.3.2 Eau.....	43
6.3.3 Matériaux pour la litière et les nids.....	43
6.4 Enrichissement de l'environnement	44
6.5 Contact humain et manipulation.....	45
6.6 Observation des animaux	45
6.7 Changements de la litière et désinfection de la cage	45
6.8 Tenue de registres.....	46
7. MANIPULATION ET CONTENTION	47
7.1 Manipulation	47
7.2 Contention.....	47
8. ÉVALUATION DU BIEN-ÊTRE ANIMAL.....	49
9. SANTÉ ET PRÉVENTION DES MALADIES.....	52
9.1 Prévention des maladies.....	52
9.2 Surveillance de la santé et détection des maladies.....	53
9.3 Gestion des soins en cas d'écllosion d'une maladie infectieuse.....	54

10. PROCÉDURES EXPÉRIMENTALES	56
10.1 Modèles animaux.....	57
10.2 Administration de substances.....	57
10.2.1 Injection.....	58
10.2.2 Administration par voie orale.....	59
10.3 Prélèvements de liquides corporels ou de tissus.....	60
10.3.1 Sang.....	60
10.3.2 Urine et fèces.....	61
10.4 Explants et implants.....	62
10.5 Procédures chez la souris génétiquement modifiée.....	62
10.5.1 Prélèvement d'échantillons pour le génotypage.....	63
10.5.2 Superovulation des femelles.....	64
10.5.3 Stérilisation des mâles.....	64
10.5.4 Redérvation par transfert d'embryon.....	64
10.5.5 Phénotypage.....	64
10.6 Production d'anticorps.....	65
10.7 Imagerie.....	65
10.8 Études comportementales.....	65
10.9 Contrôle de la consommation d'aliments et de liquides.....	66
10.10 Anesthésie et analgésie.....	66
10.10.1 Anesthésie.....	66
10.10.2 Analgésie.....	68
10.11 Intervention chirurgicale.....	69
10.12 Surveillance et soins post-intervention.....	71
10.12.1 Surveillance.....	71
10.12.2 Soins post-intervention.....	72
11. EUTHANASIE	73
11.1 Méthode par injection.....	73
11.2 Techniques par inhalation.....	74
11.3 Méthodes physiques.....	75
11.4 Autres méthodes.....	75
11.5 Euthanasie de la souris non sevrée.....	75
12. FIN DE L'ÉTUDE	76
12.1 Transfert de souris entre établissements ou protocoles.....	76
12.2 Adoption des animaux.....	76
12.3 Élimination des animaux morts.....	76
13. SANTÉ ET SÉCURITÉ DES PERSONNES	77

RÉFÉRENCES	79
ANNEXE 1	
Ressources pour des renseignements supplémentaires sur les caractéristiques des souris	105
ANNEXE 2	
Bases de données de lignées de souris modifiées par génie génétique	106
ANNEXE 3	
Méthodes d'identification des souris.....	107
ANNEXE 4	
Pratiques recommandées pour le génotypage	110
ANNEXE 5	
Indicateurs de maladies	117
ANNEXE 6	
Indicateurs pour l'évaluation du bien-être de la souris	119
GLOSSAIRE	121



Les souris

PRÉFACE

Le Conseil canadien de protection des animaux (CCPA) est l'organisme national chargé d'établir et d'appliquer, selon le principe d'évaluation par les pairs, des normes en matière d'éthique et de soins aux animaux dans le domaine scientifique au Canada.

Le document *Lignes directrices du CCPA : les souris* s'adresse aux chercheurs, aux comités de protection des animaux, aux gestionnaires d'animaleries, aux vétérinaires et au personnel de soins et vise l'amélioration des soins donnés aux souris et des procédures expérimentales qui les touchent.

Ces lignes directrices ont pour but d'aider à l'application des Trois R, soit le remplacement, la réduction et le raffinement (Russell et Burch, 1959). Élaborées à partir de l'expertise de pairs et de l'interprétation actuelle des connaissances scientifiques, elles proposent un cadre pour la mise en œuvre de pratiques évolutives fondées sur des données probantes. De telles pratiques devraient favoriser l'amélioration continue du bien-être des animaux. Par ailleurs, les personnes travaillant avec des souris devraient se tenir au courant des plus récentes avancées et publications scientifiques dans le domaine.

En ce qui concerne les recherches à l'extérieur du Canada, les chercheurs canadiens demeurent assujettis aux présentes lignes directrices en plus de devoir suivre la législation et la réglementation sur les soins aux animaux en vigueur dans le pays où est menée l'étude.

SOMMAIRE DES PRINCIPES DIRECTEURS

2. ANIMALERIES

Principe directeur 1

Les chercheurs et les gestionnaires doivent connaître les différents types de cages disponibles et déterminer celui qui est approprié pour l'étude et le bien-être de l'animal.

Section 2.1.1 Types de cages, p. 12

Principe directeur 2

La dimension et la complexité des cages devraient permettre aux souris d'être hébergées dans un groupe d'une taille répond à leurs besoins comportementaux, et de démontrer des comportements importants pour leur bien-être.

Section 2.1.1.1 Taille de la cage, p. 14

Principe directeur 3

La surface du fond de la cage devrait être d'au moins 330 cm² et la densité de l'hébergement devrait être déterminée en fonction de la superficie requise par souris.

Section 2.1.1.1.1 Superficie de la cage, p. 14

Principe directeur 4

Une partie de la cage devrait avoir au moins 13 cm de hauteur (distance entre le fond et le rebord).

Section 2.1.1.1.2 Hauteur de la cage, p. 16

Principe directeur 5

La conception de la cage doit permettre de surveiller les animaux adéquatement, sans les déranger, et tenir compte des exigences de l'étude.

Section 2.1.1.2 Matériau de la cage, p. 16

Principe directeur 6

Les souris devraient être hébergées dans des cages à fond plein.

Section 2.1.1.3 Plancher de la cage, p. 17

Principe directeur 7

Les souris doivent être hébergées individuellement dans des cages métaboliques seulement lorsque cela est nécessaire pour l'étude, et le moins longtemps possible.

Section 2.1.2 Cages métaboliques, p. 19

3. GESTION DES INSTALLATIONS ET DU PERSONNEL

Principe directeur 8

Les pratiques de gestion de l'animalerie doivent viser à faire en sorte que l'environnement, à la fois micro et macro (dans la cage comme dans la pièce), assure le maintien de la santé et du bien-être des animaux et du personnel et des résultats de recherche cohérents.

Section 3.1 Gestion de l'environnement, p. 21

Principe directeur 9

Les salles d'hébergement pour les souris devraient être situées loin de l'équipement ou des animaux bruyants, et des mesures devraient être prises pour atténuer les vibrations et le bruit excessifs dans les salles.

Section 3.1.4 Bruit et vibrations, p. 25

Principe directeur 10

Chaque souris doit faire l'objet d'une observation quotidienne effectuée par une personne qualifiée et, autant que possible, sans déranger l'animal.

Section 3.2 Personnel, p. 26

4. ACQUISITION

Principe directeur 11

Avant que les souris soient envoyées, elles devraient réussir un examen de santé.

Section 4.5 Réception des souris, p. 30

5. ÉLEVAGE

Principe directeur 12

Une bonne gestion des colonies d'élevage doit respecter les protocoles approuvés et prévoir les besoins, le tout selon les principes des Trois R.

p. 32

6. SOINS ET GESTION

Principe directeur 13

Les souris devraient être hébergées en groupes.

Section 6.2.1 Hébergement en groupes, p. 41

Principe directeur 14

Des matériaux pour la litière et les nids doivent être fournis pour permettre aux souris de construire des nids et de réguler leur température corporelle, ainsi que de creuser à la recherche de nourriture.

Section 6.3.3 Matériaux pour la litière et les nids, p. 43

Principe directeur 15

La fréquence des changements de la litière devrait permettre de maintenir la qualité de l'air et de la litière dans les cages selon des paramètres acceptables, tout en tenant compte du stress associé à ces changements et de ses répercussions possibles sur les données expérimentales.

Section 6.7 Changements de la litière et désinfection de la cage, p. 45

7. MANIPULATION ET CONTENTION

Principe directeur 16

Les souris doivent être manipulées avec douceur de manière à éviter des blessures et de la détresse.

p. 47

8. ÉVALUATION DU BIEN-ÊTRE ANIMAL

Principe directeur 17

Le bien-être de toutes les souris hébergées devrait être régulièrement évalué.

p. 49

9. SANTÉ ET PRÉVENTION DES MALADIES

Principe directeur 18

Le programme de santé animale devrait être destiné à toutes les souris sans exception.

p. 52

Principe directeur 19

Des mesures stratégiques pour la prévention des maladies devraient inclure un programme de prévention des maladies et des mécanismes de suivi et de rapport périodiques d'évaluation de l'état de santé.

Section 9.1 Prévention des maladies, p. 52

Principe directeur 20

Des procédures normalisées de fonctionnement devraient être établies pour évaluer la santé de l'animal et pour fournir des soins et des traitements aux problèmes de santé courants chez les animaux et, afin d'en assurer la pertinence, elles devraient être réexaminées tous les trois ans.

Section 9.2 Surveillance de la santé et détection des maladies, p. 53

Principe directeur 21

Un plan de gestion des soins doit être mis en place pour intervenir en cas d'éclosion de maladies.

Section 9.3 Gestion des soins en cas d'éclosion d'une maladie infectieuse, p. 54

10. PROCÉDURES EXPÉRIMENTALES

Principe directeur 22

La méthode la moins invasive et adaptée aux objectifs de l'étude doit être utilisée, et tenir compte des répercussions possibles des procédures, y compris chez les autres souris présentes dans la pièce, et des mesures à mettre en œuvre pour les réduire.

p. 56

Principe directeur 23

Les points limites doivent être établis et approuvés par le comité de protection des animaux avant le début de l'étude pour réduire le plus possible les effets négatifs des procédures expérimentales chez l'animal.

p. 56

Principe directeur 24

L'analgésie devrait être utilisée pour réaliser une procédure invasive susceptible d'être douloureuse pour la souris.

Section 10.10.2 Analgésie, p. 68

Principe directeur 25

La surveillance et les soins postopératoires doivent être planifiés en fonction de la procédure et des besoins particuliers de l'animal, et pouvoir être adaptés en cas d'imprévu.

Section 10.12.1 Surveillance, p. 71

11. EUTHANASIE

Principe directeur 26

L'euthanasie des souris doit être réalisée uniquement par du personnel qualifié, et selon la méthode qui convient le mieux à l'animal, au contexte d'hébergement et à l'étude.

p. 73

1 INTRODUCTION

Dans ce document, l'emploi du verbe « devoir » au présent de l'indicatif (« doit ») indique une obligation à respecter sans exception. Quant à son emploi au conditionnel présent (« devrait »), il indique une obligation pour laquelle toute exception doit être justifiée auprès d'un comité de protection des animaux et approuvée par ce dernier.

Les mammifères les plus souvent utilisés en science au Canada sont les souris, soit 31,2 % des animaux en science selon les dernières données sur les animaux publiées par le CCPA. Consulter [le site Web du CCPA](#) pour obtenir les données actualisées.

Les souris sont choisies pour diverses études. Les caractéristiques suivantes en font des animaux populaires en recherche : 1) nombreuses variétés de souches et de modèles disponibles (pour des exemples, consulter [le site Web Mouse Genome Informatics](#)); 2) petite taille; 3) espérance de vie assez courte; et 4) court cycle de reproduction.

Les études chez la souris peuvent cependant présenter des difficultés, dont voici quelques exemples :

- l'évaluation et le soulagement de la douleur, de l'inconfort et de la détresse;
- la petite taille de la souris pose des défis pour les protocoles qui exigent la réalisation d'interventions chirurgicales;
- le maintien des conditions d'asepsie lors d'intervention chirurgicale avec réveil alors que le soutien technique est limité;
- les éventuels effets négatifs sur le bien-être animal de modèles de souris génétiquement modifiées et de nouveaux modèles de maladies.

Dans le domaine de la science faisant appel aux animaux, la validité scientifique des protocoles qui font appel à des souris doit être démontrée, et les Trois R (remplacement, réduction, raffinement) de Russel et Burch (1959) doivent guider les décisions concernant la conception des études et les soins prodigués aux souris.

Lors de la planification et de la réalisation d'études avec des animaux, il est important de tenir compte du remplacement. On doit également examiner les stratégies de réduction pour recourir au plus petit nombre d'animaux requis pour obtenir des renseignements valables et une efficacité statistique, en plus de réduire au minimum les répercussions individuelles sur le bien-être animal. La taille de l'échantillon devrait être déterminée en faisant appel, au besoin, aux services d'un biostatisticien.

Ce document porte principalement sur le raffinement, à la fois des soins aux animaux et des procédures réalisées dans le cadre de protocoles approuvés par le comité de protection des animaux et qui font appel à des souris. Les animaux hébergés dans un environnement où les pratiques et les installations visent la promotion du bien-être animal sont moins sujets au stress et plus susceptibles d'avoir des comportements et

traits physiologiques normaux (Poole, 1997; Garner et coll., 2017), alors que l'absence de mesures quant à la douleur et à la détresse chez l'animal peut influencer la fiabilité des données expérimentales (Jirkof, 2017).

Les premières sections constituent les assises des présentes lignes directrices, soit des notions de biologie comportementale liées au bien-être (section 1.1, « Biologie comportementale »), une description des capacités sensorielles (section 1.2, « Capacités sensorielles »), les caractéristiques anatomiques et physiologiques (section 1.3, « Anatomie et physiologie ») et la variabilité des comportements sociaux (section 1.4, « Sources de variations »). En plus de tous des sujets qui touchent des enjeux du bien-être animal, il faut tenir compte des caractéristiques de l'espèce, de la souche, du sexe et de l'individu quand on aborde la question de l'impact d'une procédure ou d'une condition expérimentale sur le bien-être des souris et sur les résultats de la recherche.

1.1 BIOLOGIE COMPORTEMENTALE

Le bien-être murin repose sur un environnement en laboratoire qui tient compte des comportements innés (en fonction de la souche) et qui y prévoit des aménagements pour permettre aux souris de démontrer, le cas échéant, ces comportements.

Dans leur environnement naturel, les souris sont des animaux grégaires (Crowcroft et Rowe, 1963; Berry et Bronson, 1992). La densité de la population dépend de l'environnement (p. ex. les abris ou les ressources disponibles). Les environnements complexes permettent une densité de population de souris plus élevée que les espaces ouverts (Gray et coll., 2000). Un groupe peut comprendre un mâle dominant, des mâles subalternes et des femelles reproductrices (voir l'étude de Latham et Mason, 2004), bien que l'organisation sociale peut être influencée par la densité de la population. Les souris marquent leur territoire avec leurs déjections (urine et fèces); les dépôts émis par un animal dominant sont plus fréquents (Goodrich et coll., 1986; Hurst, 2005).

Les souris sont des proies; elles longent les murs pour éviter les espaces ouverts (Baumans, 2005). Ce sont des animaux nocturnes (Baumans, 2010; Baumgardner et coll., 1980). Elles sont actives à partir du crépuscule (Olsson et coll., 2003), et ont tendance à se mettre à l'abri de la lumière vive.

Les souris sont des animaux actifs et agiles qui explorent leur environnement (Baumans, 2010). C'est un animal rongeur, fouisseur, grimpeur et joueur (p. ex. saute et part en courant). Parmi ses autres activités, notons la construction de nid, la recherche de nourriture, le toilettage, et la saillie (accouplement chez le mâle et la femelle) ainsi que d'autres comportements sexuels (voir Baumans, 2005, 2010; Olsson et Dahlborn, 2002). Le bien-être physique de la souris repose entre autres sur la possibilité de ronger, car ses incisives croissent continuellement, au rythme moyen de 1 à 2 mm par semaine (Baumans, 2010).

Le contact social avec d'autres animaux compatibles est le premier facteur qui encourage les activités typiques de l'espèce, et réduit les manifestations de comportements anormaux et de stéréotypies (Curley et coll., 2009a; Hunt et Hambly, 2006; Kerckmar et coll., 2014). Par ailleurs, la configuration de l'environnement de l'animal a une incidence sur sa capacité à se comporter normalement. Dans une cage où les souris ne peuvent pas fuir un individu dominant ou se réfugier dans une zone neutre, contrairement à ce qu'elles feraient en liberté, l'animal dominant peut démontrer une agressivité accrue (Van Loo et coll., 2003). Les blessures mortelles lors de combats sont une des principales causes de morbidité et de mortalité chez la souris de laboratoire (Marx et coll., 2013).

L'incapacité à contrôler certains éléments de l'environnement, entre autres, la structure sociale, la température, les congénères, peut entraîner des comportements anormaux et des stéréotypies (Gross et coll., 2012; Mason et Latham, 2004). Les comportements stéréotypés et les autres comportements répétitifs peuvent indiquer de la frustration ou un dysfonctionnement du cerveau et doivent être envisagés comme des signes possibles de détérioration du bien-être, bien que d'autres facteurs devraient également être pris en considération (Mason et coll., 2007).

Bien qu'il n'existe pas de lien direct entre ce type de comportement et la fonction cérébrale (Gross et coll., 2012), on note des troubles du cerveau chez les animaux qui présentent des stéréotypies (Garner, 2005; Garner et coll., 2006). Chez la souris de laboratoire, sauter et ronger les barreaux (Garner et Mason, 2002; Würbel et Stauffacher, 1996) ou encore tourner en rond (dans la cage, sur une roue) sont des exemples de stéréotypies; le broyage d'aliments, la tricophagie et la saillie à répétition sont d'autres exemples de comportements anormaux, notamment chez la souris BALB/c (Clipperton-Allen et coll., 2015). Ces types de comportements, qui peuvent nuire à la santé de l'animal et influencer sur les résultats de recherche, sont plus fréquents en phase d'obscurité, lorsque les souris sont actives, et plus prononcés chez certaines souches.

Voir les ressources répertoriées à l'annexe 1, « Ressources pour des renseignements supplémentaires sur les caractéristiques des souris », pour des renseignements additionnels sur le comportement murin.

1.2 CAPACITÉS SENSORIELLES

L'odorat et la production d'odeurs jouent un rôle important dans le cadre des activités suivantes de la souris :

- les interactions sociales (p. ex. marquage du territoire, reconnaissance des groupes et des individus (Hurst, 2005; Goodrich et coll., 1986; Arakawa et coll., 2008));
- les cycles de reproduction et la maturité sexuelle (Hurst, 2005);
- la détection de la présence d'un autre animal, de nourriture et de menaces possibles (Bind et coll., 2013);
- l'attraction sexuelle, les parades nuptiales et les interactions entre les mères et leur progéniture (Bind et coll., 2013);
- la transmission de stress (Sterley et coll., 2018).

Au laboratoire, la souris utilise également les odeurs pour diviser sa cage en zones fonctionnelles, comme un coin pour déféquer (Sherwin, 2002).

Le brouillage des signaux chimiques (p. ex. lors du nettoyage de la cage) peut stresser l'animal (Gray et Hurst, 1995; Hurst, 2005; Van Loo et coll., 2000) et entraîner, entre autres, des comportements agressifs (Lerch et coll., 2016). Les odeurs non familières, comme celle d'un être humain, peuvent également provoquer des réactions de stress néfastes pour l'animal (Sorge et coll., 2014).

Les souris ont l'ouïe très développée; elles captent les ultrasons (Baumans, 2010). Des vocalisations ultrasoniques sont émises lors d'interactions non agressives, notamment chez les animaux hébergés en groupes dans des cages à environnement enrichi (Portfors, 2007).

Les bruits et les vibrations peuvent être une cause importante de détresse chez la souris (Jensen et coll., 2010; Naff et coll., 2007). Leurs effets néfastes sont, entre autres, la crise audiogène chez la jeune souris (Willott, 2007), la baisse du taux de fertilité (Fathollahia et coll., 2013) et les effets sur le système auto-immunitaire (Hillhouse et coll., 2013). Selon l'âge et la souche de la souris, des bruits forts peuvent également contribuer

à une perte auditive (Ohlemiller et coll., 2000). Une atteinte des capacités auditives peut avoir une incidence sur les travaux de recherche qui exigent une fonction auditive normale. Quant au stress pouvant être causé par le bruit ou les vibrations, il peut introduire des variables expérimentales (Willott, 2007).

La luminosité influence le comportement et l'état physiologique des souris malgré leur faible acuité visuelle (Peirson et coll., 2018). L'intensité de l'éclairage en laboratoire peut causer des dommages rétiens, notamment chez la souris albinos (De Vera Mudry et coll., 2013). Elle peut également influencer l'activité physique, le comportement maternel et des aspects physiologiques liés à la reproduction. De plus, le cycle clarté/noirceur peut avoir des effets sur le comportement et sur la physiologie de la reproduction (Small et Deitrich, 2007); par exemple, des troubles de la reproduction ont été observés chez les souris hébergées dans un espace éclairé en permanence (Miller et coll., 2004).

1.3 ANATOMIE ET PHYSIOLOGIE

Certaines caractéristiques anatomiques et physiologiques propres aux souris ont peut-être d'importantes implications pour les soins de ces animaux et leur utilisation en recherche (p. ex. la croissance permanente des incisives, l'incapacité à vomir, la perte de chaleur corporelle rapide étant donné l'importante proportion de leur surface cutanée par rapport à leur masse corporelle). L'annexe 1 présente une liste de ressources offrant des informations détaillées sur les caractéristiques anatomiques et physiologiques des souris. Il peut être utile pour les chercheurs et les vétérinaires de se consulter pour déterminer les éléments anatomiques et physiologiques de la souris à l'étude, car ces données peuvent avoir des incidences sur l'hébergement et les soins des animaux de même que sur les résultats de l'étude.

1.4 SOURCES DE VARIATIONS

1.4.1 Souches consanguines ou non

Les souris sont souvent classées dans deux groupes : les souris consanguines et les souris non consanguines. Ces dernières sont croisées avec des individus sans lien de parenté pour maintenir un taux d'hétérozygotie important. Les souris non consanguines ont une espérance de vie relativement longue, sont résistantes aux maladies et ont un taux de fécondité élevé (MGI, 2013). Une lignée consanguine de souris est produite par des accouplements entre frères et sœurs de mêmes parents, sur 20 générations consécutives. Cette population génétiquement identique est constituée d'individus homozygotes pour presque tous leurs loci (MGI, 2013; Peters et coll., 2007). Cependant, la dérive génétique et des facteurs comme une mauvaise gestion de colonies et la pollution génétique (voir Taft et coll., 2006) peuvent introduire des différences notables entre les individus d'une même souche mais de provenance diverses, d'où une subdivision en sous-lignées (Zurita et coll., 2011; Fahey et coll., 2013; Sellers, 2017). Le comportement, la physiologie et la morphologie des souris varient selon la souche (Olsson et coll., 2003; Sluyter et Van Oortmerssen, 2000), et les sous-lignées d'une lignée sont différentes génétiquement et phénotypiquement.

Les variations génétiques et phénotypiques entre les populations de souris provenant de différentes sources peuvent avoir une incidence sur le bien-être animal et les données expérimentales. Les différences au sein des populations consanguines, comme les lignées de type recombinantes consanguines, congéniques, entrecroisées avancées ou autres, peuvent aider à comprendre les processus biologiques fondamentaux et les mécanismes de la maladie (Peters et coll., 2007).

Voici quelques exemples de différences entre les lignées et sous-lignées :

- la taille de la portée et la durée de la gestation (Murray et coll., 2010);
- la réaction inattendue à l'anesthésie et à l'analgésie (Tanaka et coll., 1993; Sonner et coll., 1999; Neilan et coll., 2003);
- le comportement agonistique — certaines lignées pures (p. ex. SJL, BALB/c et FVB) sont génétiquement prédisposées à présenter ce comportement (Hurst, 2005; Canastar et Maxson, 2003; Clipperton-Allen et coll., 2015) plus que d'autres qui elles sont moins aptes à reconnaître des souris de la même souche grâce à l'odorat, ce qui réduit le comportement agonistique (Nevison et coll., 2000; Hurst, 2005);
- les comportements naturels — certaines lignées pures (p. ex. BALB/c et C57BL/6) démontrent des comportements qui reflètent leur adaptation au milieu naturel, comme la construction de tunnels et de nids, tandis que d'autres (p. ex. CBA) semblent incapables de bien les démontrer (Sluyter et Van Oortmerssen, 2000);
- les vocalisations et l'audition — le taux de vocalisation par ultrasons et les structures auditives varient selon la souche; certaines sont prédisposées aux troubles de l'audition (Willott, 2007);
- l'immunologie — Sellers (2017) examine les principales variations immunologiques entre les lignées consanguines de souris de laboratoire et leurs sous-lignées;
- le phénotype — l'apprentissage des informations spatiales, le goût pour l'alcool et d'autres mesures courantes utilisées en sciences neurocomportementales varient selon les lignées murines consanguines et les sous-lignées d'une souche populaire comme C57BL/6 (Kiselycznyk et Holmes, 2011).

Les souris de différentes lignées et celles génétiquement modifiées peuvent avoir des préférences et des exigences très variées quant à leur milieu de vie; par exemple, les souris C57BL/6 sont résistantes au froid et à de nombreuses maladies. Il est important de s'assurer que la souche, la lignée ou la sous-lignée est pertinente pour l'étude et que l'hébergement et les soins répondent aux besoins des animaux. L'annexe 2, « Bases de données de lignées de souris modifiées par génie génétique », présente une liste de bases de données sur les lignées murines et leurs caractéristiques.

1.4.2 Différences individuelles : sexe, état de santé, microbiome

L'importance de reconnaître et de comprendre l'incidence des différences liées au sexe en recherche est bien établie (McCarthy et coll., 2012). McCarthy et ses collègues (2012) et Becker et ses collègues (2005) examinent les considérations pour déterminer la nature et la portée des différences liées au sexe pour améliorer la conception des études et l'interprétation des résultats expérimentaux. Le cycle œstral peut avoir une incidence sur la variabilité pour certaines études chez la femelle, et des différences liées au sexe peuvent être plus prononcées pendant une des phases de l'activité cyclique (McCarthy et coll., 2012). Cependant, le cycle œstral ne fait pas toujours partie des variables expérimentales à mesurer (Prendergast et coll., 2014), d'autant plus qu'il peut être nécessaire de tenir compte de variables propres aux mâles comme les hiérarchies de dominance (McCarthy et coll., 2012).

L'état de santé des souris a des répercussions sur son utilisation en recherche et ses conditions d'hébergement. Des programmes d'animaux sentinelles et de quarantaine ainsi que d'autres moyens de surveillance des agents pathogènes au sein de la colonie sont des éléments importants pour le maintien d'un certain état de santé (voir la section 9, « Santé et prévention des maladies »).

Le microbiote intestinal d'un animal a une influence sur sa physiologie et sur l'apparition de nombreuses maladies (Clavel et coll., 2016; Laukens et coll., 2016). Sa composition varie en fonction de facteurs comme la génétique, l'âge, le sexe, l'alimentation, les conditions d'hébergement, l'environnement, les traitements par antibiotiques, les procédures stressantes, et il a été associé à une variation entre les modèles murins selon l'établissement ou le fournisseur (Turner, 2018; Laukens et coll., 2016).

1.4.3 Effets de l'environnement et de l'expérience de vie

Le milieu associé aux soins des animaux et à leur gestion peut être une source de variation expérimentale. Durant la phase de plasticité développementale, les facteurs liés à l'environnement antérieur agissent sur les phénotypes des adultes (voir Lonetti et coll., 2010). Moins de comportements anormaux et de stéréotypies se produisent lorsque le milieu des souris contient des ressources (Clipperton-Allen et coll., 2015), notamment chez les mâles (Lehmann et Herkenham, 2011).

En règle générale, la normalisation des conditions environnementales vise à réduire la variabilité et à optimiser la reproductibilité de la recherche. Néanmoins, de légères différences dans les soins aux animaux de divers groupes expérimentaux peuvent entraîner une variabilité comportementale importante. Une hétérogénéité accrue des conditions environnementales peut améliorer la reproductibilité (Richter et coll., 2009; Mogil, 2017; Gaskill et Garner, 2017), une possibilité qui devrait être prise en considération dans la planification de l'étude.

2 ANIMALERIES

Les orientations générales applicables aux animaleries sont présentées dans les [Lignes directrices du CCPA sur : les animaleries — les caractéristiques, la conception et le développement](#) (CCPA, 2003). La présente section contient des principes directeurs et des renseignements supplémentaires qui concernent spécifiquement les souris.

2.1 HÉBERGEMENT

Les animaux doivent être hébergés dans un logement sécuritaire et qui, pour leur bien-être, leur permet d'adopter des postures et des comportements normaux (voir la section 1, « Introduction »). Les diverses composantes de la cage (p. ex. le fond, la configuration et les dimensions de l'espace, les matériaux de nidification, l'enrichissement et la complexité du milieu) doivent être prises en considération globalement plutôt que de manière isolée, et permettre de répondre aux besoins selon la souche, le génotype, l'âge et le sexe des animaux (dans leurs études précliniques, les chercheurs des Instituts de recherche en santé du Canada tiennent compte des différences sexuelles et incluent des animaux mâles et femelles (IRSC, 2015)). L'hébergement peut avoir une influence sur les variables biologiques et devrait être pris en compte dans le plan d'expérimentation. Toutefois, il est peu probable que des changements favorables au bien-être des souris qui n'ont pas d'effet sur leur physiologie influencent les résultats de la recherche (André et coll., 2018).

2.1.1 Types de cages

Principe directeur 1

Les chercheurs et les gestionnaires doivent connaître les différents types de cages et déterminer celui qui est approprié pour l'étude et le bien-être de l'animal.

La collaboration des chercheurs, du personnel de soins aux animaux et d'autres membres du personnel est essentielle pour s'assurer que les cages répondent aux besoins de l'étude ainsi qu'aux normes de bien-être animal de l'établissement et qu'elles sont utilisées et maintenues correctement par le personnel de soins aux animaux.

Il existe toute une variété de systèmes de cages (pour plus d'informations, voir Voipio et coll., 2011, et Smith et Baran, 2013). Les chercheurs, les directeurs d'étude et les responsables d'animaleries, de même que les responsables ou les directeurs d'animaleries d'autres établissements, devraient être consultés pour tout projet d'investissement dans de nouvelles infrastructures (cages et supports) pour les souris. Les établissements doivent veiller à ce que tous les supports, remplacés ou achetés, puissent accueillir des cages dont la taille est conforme aux normes précisées ci-dessous.

Les cages devraient être conçues pour permettre l'observation quotidienne des animaux sans déranger l'animal. La forme de la cage semble laisser les souris indifférentes. Par contre, elles ont peur des espaces ouverts,

à différents degrés selon l'espèce (McGlone et coll., 2001) et l'étude. La configuration de la cage devrait donc tenir compte de ce fait. Les cages devraient en outre avoir des bords arrondis pour faciliter leur nettoyage et réduire le risque de blessures chez les animaux.

Les rongeurs préfèrent généralement les cages non ventilées. Par ailleurs, on a démontré que les rongeurs hébergés dans des cages ventilées souffrent de stress lié au froid (David et coll., 2013; York et coll., 2012), ce qui peut avoir une influence sur la reproductibilité des données expérimentales (voir à ce sujet les travaux de Burman et coll., 2014). En revanche, l'utilisation de cages ventilées permet un environnement contrôlé dans lequel l'air est filtré par des filtres HEPA et distribué à une pression, une vitesse et une température constantes dans toutes les cages installées sur un support (Spangenberg et coll., 2014). Cela permet également d'améliorer la qualité de l'air lorsque la fréquence des changements de la litière dépasse la norme d'une semaine (Rosenbaum et coll., 2009). Les souris hébergées dans ce type de cage préfèrent les cages avec le plus faible nombre de changements d'air par heure et évitent celles où l'air est brassé (Krohn et Hansen, 2010). De plus, les souris tenteront d'éliminer les courants d'air en bloquant les entrées d'air au sol et feront leur nid loin de ces entrées (Baumans, 2010). Comme la thermorégulation et les préférences des souris en matière de températures reposent sur un certain nombre de facteurs (p. ex. âge, état de reproduction, sexe, génotype), le moyen le plus simple de répondre aux besoins de toutes les souris hébergées dans un support de cages ventilées est de fournir des matériaux de nidification en quantité suffisante à l'établissement d'un microclimat individuel (Gordon, 1993, 2004, 2012; Gordon et coll., 1998; Gaskill et coll., 2012, 2013a; Gaskill et coll., 2013b).

Voici des facteurs à considérer pour l'achat de cages ventilées classiques :

- le changement d'air – le taux, le positionnement et le débit de l'alimentation en air et le type de couvercle de la cage peuvent avoir une incidence sur la qualité et le mouvement de l'air dans la cage; de leur côté, ces caractéristiques peuvent avoir une influence sur le bien-être des souris; et, il a été démontré que l'apport d'air frais dans les cages ventilées individuellement (ventilation avec ou sans force motrice) a une incidence sur le poids corporel, les aliments (solides et liquides) consommés et l'emplacement favori des souris mâles en croissance dans leur cage d'hébergement (Kostomitsopoulos et coll., 2012);
- la vibration – bien que les souris s'adaptent à une vibration constante (Reynolds et coll., 2010), il est important de tenir compte des vibrations causées par exemple par la soufflerie, notamment pour les colonies d'élevage (Norton et coll., 2011);
- le bruit – les caractéristiques de conception du support de cages ventilées, comme la position de la soufflerie (au-dessus ou sur le côté de la cage), et tout bruit produit par ces caractéristiques et audible par les animaux;
- l'accès aux animaux – la configuration des composantes de la cage peut affecter la capacité de manipuler les animaux et, par conséquent, leur bien-être;
- la surveillance des animaux;
- les blessures professionnelles (risque ergonomique);
- la désinfection des cages et des supports;
- la biosécurité – par exemple, le type de filtre (HEPA ou autre) utilisé pour filtrer l'air et la possibilité de choisir le mode de ventilation (à pression négative ou positive) dans les cages.

La conception de la pièce ou du bâtiment devrait éviter l'installation de ventilateurs sur les supports par l'optimisation structurale (Norton et coll., 2011).

2.1.1.1 Taille de la cage

Principe directeur 2

La dimension et la complexité des cages devraient permettre aux souris d'être hébergées dans un groupe d'une taille qui répond à leurs besoins comportementaux, et de démontrer des comportements importants pour leur bien-être.

Le confort de l'environnement, l'absence de douleur et de détresse, les comportements naturels et l'existence d'interactions sociales adéquates sont des éléments bénéfiques pour le bien-être de l'animal (ACMAL, 2007; CCPA, 2017).

Le choix de la cage des souris devrait permettre l'hébergement en groupe (voir la section 6.2, « Gestion de l'hébergement »). La taille de la cage a une incidence sur le nombre de souris hébergées, l'activité locomotrice et les comportements exploratoires (Jennings et coll., 1998), ainsi que sur les possibilités d'y ajouter des éléments destinés au bien-être des animaux. La taille et la complexité de la cage devraient être considérées ensemble, car l'augmentation de la surface inutilisable peut non seulement ne pas améliorer le bien-être mais nuire aux animaux (Jennings et coll., 1998; McGlone et coll., 2001; Baumans, 2010).

Les exigences spatiales devraient tenir compte de la souche, de l'âge et du potentiel de reproduction des souris (Jennings et coll., 1998; Baumans, 2010), ainsi que de modifications éventuelles des besoins de l'animal pendant son hébergement. L'espace d'hébergement devrait être évalué selon des critères comme la tendance de l'animal à démontrer des comportements normaux, la fréquence des comportements anormaux (y compris des stéréotypies) et territoriaux, les fluctuations de poids, l'incidence de maladies et la fonction reproductrice (Nicholson et coll., 2009).

Toutes proportions gardées, les jeunes animaux peuvent avoir besoin de plus d'espace que les adultes pour démontrer des comportements propices au développement (Jennings et coll., 1998). Il a d'ailleurs été démontré que, chez les jeunes, le gain de poids, la quantité des métabolites fécaux de la corticostérone et la trichophagie varient considérablement en fonction de la densité des groupes (Nicholson et coll., 2009).

Les dimensions des cages achetées par les établissements doivent au moins être conformes aux normes minimales de superficie et de hauteur précisées ci-dessous et répondre aux besoins comportementaux des animaux, notamment la possibilité de les héberger en groupe de taille appropriée. On encourage l'utilisation de grandes cages qui permettent l'aménagement de sources d'enrichissement supplémentaire, toujours en fonction des besoins comportementaux des animaux.

Au cours de l'élevage, la taille de la cage doit tenir compte de la taille et du poids de tous les petits au moment du sevrage et des adultes présents.

2.1.1.1.1 Superficie de la cage

Principe directeur 3

La surface du fond de la cage devrait être d'au moins 330 cm² et la densité de l'hébergement devrait être déterminée en fonction de la superficie requise par souris.

La taille du groupe, la souche, le sexe, l'âge, l'étape du cycle de reproduction, le type d'espace (ouvert ou structuré), l'éclairage et les ressources fournies sont des variables potentielles pour déterminer les exigences spatiales pour la souris (Fullwood et coll., 1998). L'utilisation de l'espace par l'animal peut être influencée par la complexité de l'environnement. La structure et l'aménagement des cages de grande taille devraient favoriser le confort des animaux et leur utilisation de l'espace.

La taille de la cage devrait au moins répondre aux besoins physiques et comportementaux suivants :

- un espace pour se mettre à l'abri et se reposer;
- des options permettant un confort thermique (Gaskill et coll., 2012);
- la possibilité d'éviter le contact physique ou visuel avec une autre souris hébergée dans la même cage;
- la nidification sur une litière sèche;
- l'expression de comportements importants sans qu'il y ait de contact entre animaux (p. ex. l'élevage des petits, le creusage et le toilettage, comme il est mentionné dans la section 1.1, « Comportement biologique »).

La surface de la cage devrait mesurer au moins 330 cm², même si moins de trois souris y sont hébergées; la quatrième souris et toute souris additionnelle devrait disposer d'au moins 100 cm². La cage, pour un groupe standard (soit 4 à 5 souris), devrait mesurer au moins entre 400 et 500 cm². Whittaker et ses collègues (2012) ont examiné les données scientifiques relatives à l'incidence de la densité de l'hébergement sur le bien-être murin, mais il n'y a pas de données empiriques à propos de la surface disponible par rapport à la taille des groupes. Bailoo et ses collègues (2018) n'ont pas constaté de répercussions négatives sur le bien-être des souris logées dans des cages dont les dimensions respectent les exigences minimales (voir le tableau 1). Ils soulignent toutefois qu'une augmentation de la taille du groupe peut entraîner une augmentation de l'agressivité chez les mâles issus de certaines lignées.

Tableau 1 Espace disponible

EXIGENCE	DIMENSION MINIMALE	NOTES
Taille de la cage	330 cm ²	Il faut une cage d'au moins 330 cm ² pour héberger 1 à 3 souris adultes
Espace par souris	100 cm ²	Il faut une cage d'au moins 500 cm ² pour héberger 5 animaux sevrés ou reproducteurs
Espace pour un trio de reproducteurs	330 cm ²	1 mâle et 2 femelles; sans portée
Espace pour un couple ou un trio avec une portée ¹	500 cm ²	Il faut loger les jeunes sevrés dans des cages distinctes
Espace à ajouter pour chaque adulte supplémentaire dans une cage pour élevage	100 cm ²	

¹ Ces règles sont générales et d'autres facteurs doivent être pris en compte pour de bonnes conditions et procédures d'élevage. Dans certains contextes, les portées peuvent avoir besoin de plus d'espace. Voir la section 5, « Élevage ».

2.1.1.1.2 Hauteur de la cage

Principe directeur 4

Une partie de la cage devrait avoir au moins 13 cm de hauteur (distance entre le fond et le rebord).

Au moins une partie de la cage devrait être aménagée pour permettre aux souris de se tenir sur leurs pattes postérieures en s'étirant entièrement, de sauter et de grimper sur la grille du couvercle (Jennings et coll., 1998; Pietropaolo et coll., 2007).

Une cage de grand volume est souvent souhaitable, mais la hauteur de la cage doit permettre aux souris d'accéder à leur nourriture et à la grille du couvercle ou être aménagée en fonction de cela (Jennings et coll., 1998). Pour optimiser l'espace, la hauteur de cages équipées d'abris devrait permettre aux souris de grimper sur l'abri.

2.1.1.2 Matériau de la cage

Principe directeur 5

La conception de la cage doit permettre de surveiller les animaux adéquatement, sans les déranger, et tenir compte des exigences de l'étude.

On ne dispose pas de données indiquant clairement que les souris préfèrent les cages opaques ou transparentes. On tiendra toutefois compte de certains éléments comme les filtres opaques qui protègent les souris de reflets nuisibles quoique le fait de permettre aux souris de se mettre à l'abri gêne leur observation. Il est plus facile d'observer les souris dans une cage transparente, mais la luminosité élevée peut nuire aux animaux hébergés (Jennings et coll., 1998).

La conception de la cage doit permettre de surveiller les animaux adéquatement. Comme il est mentionné dans la section 6.6, « Observation des animaux », les souris devraient faire l'objet d'un suivi quotidien. Des systèmes électroniques permettent le suivi de nombreux paramètres, mais ils comportent des limitations et l'observation des animaux demeure nécessaire.

Les cages permanentes doivent être fabriquées dans un matériau non toxique, non absorbant, durable, facile à nettoyer, résistant à la chaleur et aux produits chimiques, à l'épreuve des prédateurs et sécuritaire (Koehler et coll., 2003). Jennings et ses collègues (1998) décrivent les avantages et les inconvénients des divers matériaux de fabrication. Certains matériaux synthétiques dont on se sert pour fabriquer les cages contiennent des substances bioactives qui peuvent affecter les souris exposées, comme le bisphénol A contenu dans le polycarbonate ou le polysulfone, notamment lorsque les cages sont usagées (Howdeshell et coll., 2003). On devrait tenir compte du type de matériau lors du remplacement des cages. Le fond et les côtés de la cage devraient, de préférence, être en plastique, sauf si des cages à usage spécial sont requises.

Le matériau de la cage peut avoir une influence sur le microclimat; il peut influencer sur la luminosité et l'échange de chaleur à l'intérieur de la cage. Les cages en plastique sont considérées comme plus chaudes que celles en acier inoxydable (Jennings et coll., 1998).

2.1.1.3 Fond de la cage

Principe directeur 6

Les souris devraient être hébergées dans des cages à fond plein.

Il est recommandé d'utiliser des cages à fond plein (Jennings et coll., 1998), notamment pour les études à long terme (Kalliokoski et coll., 2013). Ce type de cage doit être utilisé pour héberger les femelles reproductrices et leurs portées jusqu'au sevrage des petits pour réduire la mortalité chez les souriceaux.

Un fond perforé ou en caillebotis plutôt qu'en grillage devrait être utilisé si l'étude exige de ne pas laisser les animaux en présence de leurs excréments. Cependant, l'utilisation de ce type de fond peut nuire au bien-être des animaux; entre autres, le treillis métallique est lié au syndrome urologique chez certaines souches de souris (Everitt et coll., 1988). Pour des renseignements concernant les études en cages métaboliques, consulter la section 2.1.2, « Cages métaboliques ».

2.1.1.4 Aménagements de la cage

Dans la cage, les matériaux pour la litière et les nids sont les plus importantes composantes de l'environnement des souris (voir la section 6.3.3, « Matériaux pour la litière et les nids »). Les efforts démontrés par les souris pour accéder aux matériaux illustrent l'importance qu'elles y accordent (Sherwin, 1996a).

D'autres enrichissements par l'ajout d'aménagements comme des abris (voir la section 2.1.1.4.1, « Abris et espaces de nidification »), des roues d'exercices et des séparateurs (voir la section 2.1.1.4.2, « Divisions physiques »), peuvent accroître la gamme des comportements démontrés et l'utilisation des différents espaces de la cage (Jennings et coll., 1998; Leach et coll., 2000) ainsi que réduire l'anxiété (Olsson et Sherwin, 2006). Lorsque les souris évoluent dans un environnement complexe, il semble que l'hyperactivité et les comportements anormaux sont moins fréquents (Chamove, 1989; Leach et coll., 2000).

Tout élément ajouté à une cage devrait être évalué pour s'assurer qu'il améliore l'environnement de l'animal et qu'il n'entraîne aucune répercussion négative (Jennings et coll., 1998). Après examen des pratiques pour l'hébergement des souris mâles et l'enrichissement de leur environnement, Kappel et ses collègues (2017) ont affirmé que les effets sur le bien-être animal sont positifs ou négatifs selon la lignée, l'âge, le rang hiérarchique, les expériences antérieures et les protocoles concernant l'hébergement et les soins. Les séparateurs et les abris peuvent augmenter l'agressivité au sein de groupes de souris mâles ou territoriales (Van Loo et coll., 2003; Howerton et coll., 2008); des ressources suffisantes pour le nombre d'animaux hébergés peuvent cependant corriger ce problème (Baumans et Van Loo, 2013).

2.1.1.4.1 Abris et espaces de nidification

Les souris choisissent de préférence les cages qui contiennent des espaces de nidification (Van de Weerd et coll., 1998a), même si l'utilisation et les avantages de ces espaces peuvent varier selon la souche et le sexe de l'animal, le type et la quantité de matériaux de nidification (Sherwin, 1996b) et le type d'espace (Buhot-Averseng, 1981; Van de Weerd et coll., 1998a). Les abris et les espaces de nidification devraient avoir plus d'une entrée et être assez spacieux pour accueillir toutes les souris de la cage. En quantité suffisante, les matériaux de nidification permettent à l'animal de s'abriter.

Les abris peuvent réduire la perte thermique par convection dans les cages ventilées en faisant obstacle au mouvement de l'air. Ils permettent aussi d'éviter la lumière ou de s'éloigner des autres animaux. Les animaux peuvent alors démontrer un comportement thigmotactique en grimpant sur ces murs additionnels. Les abris faits de plastique sécuritaire peuvent permettre aux animaux de se réfugier lors d'incidents comme une inondation accidentelle (causée par le bris de bouteilles d'eau ou du système d'abreuvement automatique). Comme les souris rongent le plastique, les abris endommagés devraient être jetés. Les abris en papier non toxique peuvent répondre à d'autres besoins comportementaux, comme de mâcher et manipuler des objets (Jennings et coll., 1998). Par ailleurs, les souris peuvent profiter d'un tel couvert pour y faire leur nid en transportant des matériaux dans l'abri (Van Loo et coll., 2005).

2.1.1.4.2 Divisions physiques

L'utilisation de séparateurs dans les cages exige un suivi étroit pour s'assurer de leurs effets positifs sur le bien-être murin. Les divisions physiques sont conçues à des fins diverses, comme des cloisons partielles pour augmenter la complexité des cages tout en permettant des contacts directs entre souris ou encore les grillages pour permettre le contact social si le contact direct n'est pas approprié pour l'étude ou le bien-être des souris.

Les cloisons peuvent complexifier l'environnement et favoriser la pleine utilisation de la surface (Leach et coll., 2000) et l'activité (Chamove, 1989). Les cloisons peuvent donner l'impression aux souris d'être moins nombreuses dans la cage (Jennings et coll., 1998) ou de se retrancher du groupe. Les divisions qui simulent un terrier et qui permettent à tous les individus du groupe de se nicher ensemble peuvent réduire le stress chez certaines souches murines (Chamove, 1989) et les comportements agressifs (Tallent et coll., 2018). Néanmoins, elles ne devraient pas être utilisées dans les cages qui hébergent des animaux agressifs, notamment des mâles issus de souches connues pour leur agressivité (Barnard et coll., 1996).

Les grillages permettant un certain contact social entre des souris qui ne peuvent pas être hébergées ensemble ne semblent pas permettre d'améliorer le bien-être des animaux. En effet, cette barrière est plus stressante que l'hébergement individuel pour la souris qui récupère après une intervention chirurgicale (Van Loo et coll., 2007).

De plus amples études sur l'utilisation de divisions physiques sont nécessaires.

2.1.1.5 Mangeoires et abreuvoirs

Toutes les souris devraient avoir accès à de la nourriture et de l'eau de bonne qualité, facilement et en tout temps. On devrait minimiser la contamination de la nourriture et de l'eau.

En général, la nourriture devrait être placée dans des mangeoires sécuritaires (p. ex. sans bords coupants). Pour les individus à mobilité réduite comme certaines souris génétiquement modifiées, il peut être nécessaire de poser la nourriture dans le fond de la cage.

La distribution de l'eau peut se faire au moyen de bouteilles, de biberons ou d'un système d'abreuvement automatique. L'eau sous forme de gel comestible peut également être utilisée pour les souris. Peu importe la méthode choisie, il faut s'assurer que tous les animaux peuvent boire (Gordon et Wyatt, 2011). La méthode retenue devrait être celle qui permet le mieux à tous les animaux d'avoir accès à l'eau et d'éviter toute inondation dans la cage. Certaines souris peuvent avoir besoin de plus de sources d'eau que ce qui est fourni, comme c'est le cas pour les animaux malades ou affaiblis et les jeunes récemment sevrés (voir la section 5.3.3, « Sevrage »).

2.1.2 Cages métaboliques

Principe directeur 7

Les souris doivent être hébergées individuellement dans des cages métaboliques seulement lorsque cela est nécessaire pour l'étude, et le moins longtemps possible.

Les cages métaboliques peuvent avoir une incidence négative sur le bien-être de la souris. Voici les principaux facteurs de stress pour les souris hébergées dans des cages métaboliques :

- l'hébergement individuel (voir la section 6.2.2, « Hébergement individuel »);
- l'absence d'enrichissement (voir la section 6.4, « Enrichissement de l'environnement »);
- un fond grillagé ou en treillis (voir la section 2.1.1.3, « Fond de la cage »).

Tous ces facteurs sont associés à des problèmes liés au bien-être décrits dans les sections mentionnées ci-dessus. On devrait préférentiellement utiliser d'autres cages; par exemple, prélever les échantillons sur les animaux sans les sortir de leur cage.

Kalliokoski et ses collègues (2013) ont constaté que les souris ne s'acclimatent pas à une telle aridité de l'environnement et en ont conclu que la condition physiologique des animaux hébergés dans ce type de cage est anormale. L'isolement dans une cage métabolique peut entraîner des changements, imputable au stress, dans la physiologie (Stechman et coll., 2010), de même que dans la fonction cardiovasculaire (Hoppe et coll., 2009), la température corporelle et l'état du pelage (Kalliokoski et coll., 2013). Chez certaines souris, l'isolement peut entraîner une augmentation de la concentration de corticostérone dans les matières fécales pour une période pouvant aller jusqu'à 14 jours (Hunt et Hambly, 2006). De plus, l'isolement entraîne des changements comportementaux traduisant une atteinte au bien-être de la souris (Yamamoto et coll., 2018).

Pour les études qui exigent l'utilisation de cages métaboliques pendant plus de 24 heures, les souris hébergées devraient être bien et pouvoir se reposer sur une plateforme et se créer un microclimat.

2.2 INSTALLATIONS CHIRURGICALES

Les *Lignes directrices du CCPA sur : les animaleries – caractéristiques, conception et le développement* (CCPA, 2003) exigent la présence d'une unité dédiée aux interventions chirurgicales ou d'un espace distinct de la salle de procédures. Pour les souris, il est préférable d'avoir une unité dédiée, et les interventions chirurgicales non terminales devraient être effectuées dans cette pièce. L'espace réservé devrait être facile à nettoyer; les surfaces devraient être étanches pour contrôler la contamination et permettre le maintien de conditions d'asepsie. Il devrait également y avoir une aire préopératoire et une aire de récupération.

Au besoin, un système pour évacuer les gaz anesthésiques doit être en place. Les enceintes de sécurité biologique devraient être utilisées uniquement si nécessaire. Des mesures devraient être prises pour éviter l'hypothermie chez la souris (voir la section 10.11, « Intervention chirurgicale »). De plus, les phases postopératoires devraient avoir lieu dans un endroit dédié au réveil.

2.3 INSTALLATIONS DÉDIÉES POUR LA PRODUCTION DE SOURIS GÉNÉTIQUEMENT MODIFIÉES

En Amérique du Nord, les principaux centres de recherche et les établissements d'enseignement peuvent obtenir des services de transgénèse de qualité et à des prix concurrentiels. Compte tenu des services disponibles, il est préférable de planifier l'établissement d'installations dédiées à la production de souris génétiquement modifiées dans un contexte à long terme, et de consulter pour cela les parties intéressées. Ainsi, l'établissement peut prendre la décision stratégique d'établir des installations pour produire ses propres animaux génétiquement modifiés ou d'en sous-traiter la production en fonction de critères comme la disponibilité des ressources matérielles et humaines, de l'emplacement géographique ou des besoins locaux.

Des infrastructures de qualité et du personnel qualifié représentent des investissements importants d'argent, de temps et de ressources. Les nouvelles infrastructures (y compris les laboratoires et leurs équipements) et les projets de rénovation ou d'agrandissement devraient permettre d'héberger les animaux dans un milieu exempt d'organismes pathogènes spécifiques dont les barrières créent des espaces pour redériver et héberger des lignées. Un personnel qualifié est essentiel au fonctionnement optimal de toute installation pour animaux transgéniques; en région éloignée, il peut être difficile de recruter et de conserver du personnel compétent. Pour de nombreuses installations, le succès repose sur un financement opérationnel de base et une supervision par des experts, notamment des chercheurs chevronnés et des vétérinaires.

Une décision éclairée permet d'employer les meilleures méthodes pour une production efficace des animaux requis, peu importe si les animaux utilisés par les chercheurs proviennent d'installations sur place ou d'une source externe fiable. Il est alors également possible de réduire le nombre d'animaux requis pour la production.

L'installation principale comprend généralement un aménagement pour la cryoconservation. Les unités cryogéniques devraient être munies d'une source auxiliaire d'énergie et d'azote liquide ainsi que d'un système d'alarme.

3

GESTION DES INSTALLATIONS ET DU PERSONNEL

3.1 GESTION DE L'ENVIRONNEMENT

Les personnes concernées devraient consulter les [*Lignes directrices du CCPA sur : les animaleries — les caractéristiques, la conception et le développement*](#) (CCPA, 2003) pour prendre connaissance des principes généraux de la gestion d'une animalerie qui s'appliquent à toutes les espèces. La présente section contient des renseignements supplémentaires qui concernent spécifiquement les souris.

Principe directeur 8

Les pratiques de gestion de l'animalerie doivent viser à faire en sorte que l'environnement, à la fois micro et macro (dans la cage comme dans la pièce), assure le maintien de la santé et du bien-être des animaux et du personnel et des résultats de recherche cohérents.

Les procédures de gestion de l'environnement varieront en fonction de la configuration de la salle et du type de cages. Le maintien de conditions appropriées dans chaque cage devrait faire l'objet d'une attention particulière.

3.1.1 Éclairage

Les conditions d'éclairage, notamment une exposition prolongée à la lumière et à l'éclairage supplémentaire requis pour les procédures, devraient favoriser le bien-être animal tout en permettant l'observation et la manipulation des animaux. L'intensité de l'éclairage dans les cages est importante pour les animaux, et varie en fonction du type de cage, de la présence ou de l'absence de matériaux de nidification, de l'emplacement de la cage dans la pièce et sur le support (p. ex. avec un écran sur le dessus). De plus, la photosensibilité et la susceptibilité aux problèmes rétiens varient selon la souche de souris (LaVail et coll., 1987; De Vera Mudry et coll., 2013), et la dégénérescence des photorécepteurs par la lumière est commune chez la souris albinos (LaVail et coll., 1987).

L'intensité lumineuse se mesure généralement en lux. Par contre, cette mesure caractérise la luminosité perçue par l'humain et non celle perçue par la souris dont les yeux n'ont pas la même sensibilité spectrale (Peirson et coll., 2018). Les conditions d'éclairage dans les laboratoires où des animaux sont hébergés dépendent des conditions d'hébergement; il est donc possible que le principe directeur de 325 lux (mesuré à 1 m du sol) mentionné dans les [*Lignes directrices du CCPA sur : les animaleries — les caractéristiques, la conception et le développement*](#) (CCPA, 2003) correspond à un éclairage trop fort pour les souris (De Vera Mudry et coll., 2013). L'éclairage devrait être inférieur à 325 lux dès que cette intensité n'est pas requise pour la réalisation des soins ou l'étude.

La transition entre lumière et obscurité est souvent utilisée pour mesurer l'anxiété chez la souris (comportement d'évitement des zones fortement éclairées). La lumière intense peut être la cause d'affections oculaires

(Greenman et coll., 1982) et influencer le comportement, la reproduction et la physiologie (Lipman et Perkins, 2002). Les dommages à la rétine causés par la lumière, peu importe leur gravité, entraînent un remodelage à long terme de la membrane chez les souches murines (Rozanowska, 2012; Organisciak et Vaughan, 2010). En plus de problèmes liés au bien-être de l'animal, les défauts engendrés par ce remodelage causé par l'exposition à la lumière ont des conséquences pour les souris génétiquement modifiées utilisées pour modéliser le développement, la fonction et les maladies de la vision (Natoli et coll., 2016; Song et coll., 2016; Zhao et coll., 2014; Kuse et coll., 2014).

La variation du cycle jour/nuit entraîne du stress pour les souris; une longue période d'acclimatation peut donc être nécessaire (van der Meer et coll. 2004; Loh et coll., 2010). L'effet de la lumière sur le rythme circadien peut affecter les paramètres physiologiques comme la croissance, le métabolisme, la reproduction, les paramètres endocriniens et immunologiques, de même que le comportement (Campuzano et coll., 1999; Kolaczowska et coll., 2001; Jiang et coll., 2006) et l'évolution d'états pathologiques comme la croissance des tumeurs (Filipski et coll., 2005). Selon la souche murine, ces réactions peuvent se complexifier (Kolaczowska et coll., 2001). Pour fournir une référence stable, la période d'acclimatation aux changements de luminosité devrait permettre le rétablissement de l'homéostasie.

La reproduction des souris est optimale, sans problèmes comportementaux, avec un cycle de 14 heures de lumière et de 10 heures d'obscurité (14:10). Cependant, une photopériode de 12:12 est acceptable. Un cycle diurne constant est essentiel pour des résultats fiables; l'ouverture, même rapide, d'une porte pendant la phase d'obscurité peut affecter la reproduction et le comportement et être une source d'anxiété (Bedrosian et coll., 2013). Si des observations sont effectuées pendant la phase d'obscurité, on devrait utiliser un type d'éclairage dont le spectre nuit moins aux souris; par exemple, les souris sont moins sensibles à la lumière rouge (Jennings et coll., 1998) ou orangé, comme celui des lampes à vapeur de sodium (McLennan et Taylor-Jeffs, 2004). Toutefois, certains paramètres physiologiques peuvent être affectés par la lumière rouge (Hofstetter et coll., 2005; Pierson et coll., 2018).

Dans certaines études, les diodes électroluminescentes (DEL) peuvent avoir une incidence, car il a été démontré que la lumière bleue entraîne des problèmes de comportement, une augmentation de la corticostérone et un décalage de la période de sommeil (Pilorz et coll., 2016).

Il faut déterminer la luminosité dans la pièce et dans les cages une fois l'équipement en place, en prenant des mesures sur les rangées supérieures et inférieures ainsi que sur celles au milieu des supports de cages et à l'intérieur de cages situées à l'avant et à l'arrière. Cette notion est très importante pour comprendre l'exposition à la lumière, un facteur qui devrait être mesuré périodiquement pour au besoin ajuster la luminosité. Les pratiques de gestion de la luminosité devraient être évaluées en fonction de l'étude. Par exemple, la rotation des cages n'est pas pratique si elle entraîne un stress chez l'animal ou un mélange entre les sujets appartenant à différents groupes établis en fonction de la dose. Voici des pratiques de gestion de la luminosité dans les cages :

- faire pivoter les cages sur le support;
- éviter l'utilisation de la tablette supérieure des supports ou, en l'absence de cage avec un couvercle plein, installer un écran au-dessus de celle-ci;
- permettre aux animaux de s'abriter de la lumière en se nichant dans la cage ou en se cachant derrière une structure;
- utiliser la lumière rouge ou orangée pendant les phases d'obscurité pour surveiller l'activité des souris;

- protéger les yeux des souris si un éclairage intense est nécessaire pour effectuer une procédure (p. ex. procéder par lots de cages et les couvrir avec des serviettes pour bloquer la lumière ou utiliser un tube opaque pour la contention).

Par ailleurs, les chercheurs devraient surveiller les situations où les souris sont exposées à différentes conditions d'éclairage, notamment les écarts importants entre la luminosité dans la cage et l'éclairage ambiant ou d'un poste de travail lorsque les souris sont retirées de leur cage.

3.1.2 Température et humidité relative

Les paramètres température et humidité relative devraient être considérés ensemble, car la combinaison de leurs effets influe sur le bien-être animal. Les installations devraient avoir un système pour surveiller ces deux paramètres dans les cages. Le type de cage, le nombre de souris et la qualité et la quantité des matériaux pour la litière et les nids ont une influence sur la température et l'humidité relative à l'intérieur de la cage. Parmi les autres facteurs entrant en ligne de compte, mentionnons la position de la cage sur le support et dans la pièce, le taux de renouvellement d'air, la fréquence de changement des cages, l'enrichissement de l'environnement (p. ex. la présence ou l'absence d'abris) et le nombre d'animaux dans la cage. Même avec une ventilation adéquate, la température dans les cages peut nettement dépasser la température de la salle d'hébergement (Reeb et coll., 1997).

La température ambiante devrait être mesurée et notée chaque jour, ou surveillée en continu, à l'aide d'un système de contrôle automatique de bâtiments doté d'un dispositif d'alerte et de notification, et être maintenue entre 20 et 26 °C (Yamauchi et coll., 1983). Des températures plus élevées comprises entre 22 et 28 °C améliorent la fonction reproductrice (Helppi et coll., 2015). Selon Gaskill et ses collègues (2012), les souris préfèrent une température qui varie entre 26 et 29 °C selon la souche et le sexe. Une quantité suffisante de matériaux de nidification appropriés permet de créer un microclimat dans la cage et ainsi d'atteindre ces températures élevées (Gaskill et coll., 2013a). Selon Johnson et ses collègues (2017), 8 à 12 g de matériaux permettent aux souris de se construire un nid avec un dôme.

Pour les souris allaitantes et les jeunes âgés de 3 semaines ou moins, la température ambiante devrait se situer à l'extrémité supérieure de la fourchette, c'est-à-dire entre 24 et 26 °C (Gordon, 1993). Cette exigence est influencée par la présence ou l'absence de matériaux de nidification fournis. Les jeunes animaux, les sujets âgés, les souris obèses et celles qui sont soumises à des procédures (p. ex. anesthésie, intervention chirurgicale) devraient faire l'objet d'une attention particulière, car leur capacité de thermorégulation peut être réduite.

Les brusques changements de température devraient être évités (Swoap et coll., 2004). Des matériaux de nidification appropriés peuvent permettre d'éviter de telles variations à l'intérieur des cages (Gordon, 2004; Gaskill et coll., 2013c).

La température ambiante peut avoir un effet sur le métabolisme, la fonction cardiovasculaire (Overton et Williams, 2004; Swoap et coll., 2004), l'activité motrice (Overton et Williams, 2004), la croissance, le poids du corps et des organes, la consommation de nourriture et d'eau, les paramètres hématologiques et biochimiques, la sensibilité aux toxines, l'immunocompétence, la reproduction (Yamauchi et coll., 1983), le sommeil (Jhaveri et coll., 2007), le comportement social (Greenberg, 1972) et les états pathologiques (Hylander et Repasky, 2016).

Le taux d'humidité relative devrait idéalement être entre 40 et 60 %, comme il est mentionné dans les [Lignes directrices du CCPA sur : les animaleries — les caractéristiques, la conception et le développement](#) (CCPA,

2003). Dans le but de contrôler le taux d'ammoniac, le seuil acceptable pour le taux d'humidité est de 30 %, mais la prudence est de mise car un faible taux d'humidité peut entraîner la déshydratation chez les jeunes animaux (Hessler et Leary, 2002). L'état de santé des animaux et les effets du taux d'humidité chez les animaux soumis à des procédures expérimentales sont des facteurs importants pour déterminer un taux d'humidité approprié. Si le taux d'humidité relative est trop faible, on devrait pouvoir l'augmenter.

Chez la souris, les problèmes de santé causés par une faible humidité relative comprennent des modifications de la sécrétion lacrymale ou de la densité des cellules caliciformes, la vulnérabilité à la sécheresse des yeux associés aux signes cliniques observés sur la surface oculaire (Barabino et coll., 2007), la déshydratation chez les jeunes (Hessler et Leary, 2002) et la sensibilité accrue à certaines infections respiratoires. Traditionnellement attribuée à un faible taux d'humidité relative, la nécrose annulaire de la queue chez les jeunes serait plutôt une affection multifactorielle (Recordati et coll., 2015).

Quant à l'humidité relative élevée, elle affecte la capacité de thermorégulation de la souris (Clough, 1982; Donnelly, 1989) et favorise la prolifération des bactéries, ce qui entraîne l'augmentation du taux d'ammoniac (Memarzadeh, 2005; Reeb-Whitaker et coll., 2001).

La santé et le confort du personnel devraient également être pris en compte.

3.1.3 Qualité de l'air et ventilation

Comme il est mentionné dans les *Lignes directrices du CCPA sur : les animaleries — les caractéristiques, la conception et le développement* (CCPA, 2003), « le nombre de changements d'air dans une pièce doit être effectué de façon à ce que le personnel et les animaux aient de l'air propre et frais en tout temps ». Voir la section 12.3, « Chauffage, ventilation et climatisation » des *Lignes directrices du CCPA sur : les animaleries — les caractéristiques, la conception et le développement* (CCPA, 2003) au sujet des facteurs qui influencent la qualité de l'air dans les locaux. La température et les taux d'humidité et d'ammoniac sont généralement supérieurs à l'intérieur des cages par rapport à la pièce.

Dans les animaleries, les principaux contaminants de l'air sont l'ammoniac, le dioxyde de carbone, les particules et les composés organiques volatils (CCPA, 2019). La concentration d'ammoniac dans la cage devrait faire l'objet d'un suivi régulier. Les recommandations établies pour l'humain devraient être respectées, c'est-à-dire une concentration d'ammoniac inférieure à 25 ppm (Rosenbaum et coll., 2010), et la litière devrait être changée lorsque la concentration d'ammoniac à l'intérieur de la cage atteint 50 ppm (Silverman et coll., 2009). La dégénérescence de l'épithélium nasal a été observée lors de l'autopsie de souris ayant été exposées à 52 ppm d'ammoniac pendant 13 jours (Vogelweid et coll., 2011). Chez le rat, le meilleur indicateur de toxicité chronique due à une exposition à l'ammoniac est également une modification histologique des voies nasales (Broderson et coll., 1976).

Les liens entre la fréquence de changement de litière, l'histopathologie des tissus nasaux et la concentration d'ammoniac dans les cages ont été étudiés par Mexas et ses collègues (2015), et ont permis d'établir la pratique actuelle d'au moins un changement de litière par semaine pour les souris hébergées en groupes dans des cages non ventilées. Les travaux sur l'interaction entre le volume de litière, le nombre de renouvellements d'air par heure et la concentration d'ammoniac indiquent qu'il est préférable de changer la litière des cages ventilées individuellement toutes les deux semaines pour le bien-être des animaux (Ferrechia et coll., 2014; Rosenbaum et coll., 2009; Reeb-Whitaker et coll., 2001).

Les données sont insuffisantes pour déterminer les préférences des souris quant à la fréquence des changements de la litière. Entre autres, le test de préférence mené par Green et ses collègues (2008) n'a pas démontré

un comportement d'évitement chez les souris exposées à de fortes concentrations d'ammoniac. De même, il existe peu de preuves documentées sur l'effet des cages souillées sur le bien-être murin.

3.1.4 Bruit et vibrations

Principe directeur 9

Les salles d'hébergement pour les souris devraient être situées loin de l'équipement ou des animaux bruyants, et des mesures devraient être prises pour atténuer les vibrations et le bruit excessifs dans les salles.

Il est recommandé de mesurer le bruit ambiant dans les animaleries (Turner et coll., 2007; Turner et coll., 2005). Lauer et ses collègues (2009) ont surveillé les niveaux de bruit dans les salles d'hébergement de rongeurs et ont déterminé que les niveaux sonores élevés et les bruits soudains sont principalement engendrés par l'activité humaine. De même, Turner et ses collègues (2005) soutiennent que le bruit atteint généralement son niveau le plus élevé dans les animaleries pendant les heures de travail; il provient alors à la fois de l'activité du personnel et de celle des animaux qui augmente en présence du personnel.

Les souris perçoivent les sons différemment des humains. Les effets du bruit sur le bien-être animal et les résultats d'études devraient être considérés du point de vue de la souris (Reynolds et coll., 2010; Turner et coll., 2005). Chez les différentes souches de souris, la plage de fréquences audibles à une intensité de 60 décibels (dB) se situe généralement entre 2 300 et 85 500 hertz (Hz) (Heffner et Heffner, 2007), tandis que l'oreille humaine perçoit seulement les fréquences comprises entre 20 et 20 000 Hz (Turner et coll., 2005). La sensibilité auditive, la perte progressive de l'ouïe et la susceptibilité aux crises liées au bruit varient selon les souches (Turner et coll., 2005).

Les souris sont très sensibles aux ultrasons et les utilisent pour communiquer. Il est important de minimiser les bruits ultrasoniques superflus dans l'environnement, car cela peut entraîner des effets nocifs pour la santé des souris et brouiller les résultats de recherche. Les ultrasons sont produits par de nombreux appareils, notamment un robinet qui goutte, les roues des chariots, les ordinateurs, les ballasts, le déménagement de meubles, l'utilisation d'un aspirateur ou d'un lave-cages (Turner et coll., 2007).

Les effets des sons et des vibrations sur le bien-être des souris ne sont pas encore bien compris. Selon la souche et le sexe de la souris, l'exposition à des niveaux élevés de bruit ambiant ou à un bruit fort ponctuel peut entraîner une atteinte de l'appareil auditif (Willott, 2007). En plus de dommages auditifs, cela peut avoir des effets physiques. L'efficacité reproductive peut être affectée (Rasmussen et coll., 2009; Turner et coll., 2007; Turner et coll., 2005) ainsi que les systèmes endocrinien et cardiovasculaire et les cycles de veille-sommeil (Turner et coll., 2007; Turner et coll., 2005) et, chez certaines souches de souris, un bruit intense peut provoquer une crise audiogène, caractérisée par une course folle, des convulsions, une paralysie respiratoire et même la mort (Willott, 2007). Il importe aussi que les colonies d'élevage soient hébergées le plus loin possible de l'équipement ou des animaux bruyants comme les chiens ou les primates non humains.

Il a été démontré que l'exposition chronique à des sons modérés et graves, soit de fréquence inférieure à 0,5 k Hz avec une intensité de 70 dB, entraîne des troubles de l'équilibre chez la souris (Tamura et coll., 2012), mais ce niveau de bruit n'est peut-être pas néfaste pour toutes les souches. Par exemple, la concentration de métabolites de corticostérone mesurée dans les matières fécales de jeunes femelles C57BL/6 adultes exposées au bruit d'un aspirateur ne varie pas, et ces souris ne démontrent pas de comportement anxieux (Jensen

et coll., 2010). Toutefois, une seule exposition à un niveau de bruit intense affecte l'apprentissage chez les jeunes souris (Tao et coll., 2015).

La direction de l'animalerie et le service de la planification et de la gestion des infrastructures devraient collaborer lors de tout projet de construction ou de rénovation des locaux de l'établissement pour permettre aux chercheurs de prendre toute mesure nécessaire afin de réduire les répercussions des travaux sur les animaux et sur la recherche.

Les systèmes de ventilation des locaux et des supports de cages ainsi que l'équipement pour les activités de soins et de recherche, dans l'animalerie ou à l'extérieur, sont des sources de vibrations (Reynolds et coll., 2018; Norton et coll., 2011). Les vibrations peuvent entraîner divers effets physiologiques et pathologiques dont l'ampleur dépend de la cause (source de la vibration) et de l'animal (espèce touchée, âge de l'individu) (Reynolds et coll., 2018; Norton et coll., 2011). Selon l'étude de Norton et ses collègues (2011), les souris sont plus sensibles aux vibrations générées par les engins de chantier que les humains; des mesures devraient donc être prises pour réduire toutes les sources de vibrations.

3.2 PERSONNEL

Principe directeur 10

Chaque souris doit faire l'objet d'une observation quotidienne effectuée par une personne qualifiée et, autant que possible, sans déranger l'animal.

Le personnel approprié ayant reçu la formation requise est nécessaire pour le nettoyage des cages, la distribution de nourriture et d'eau ainsi que la gestion de tous les autres soins, et pour l'observation quotidienne des animaux.

Les souris doivent faire l'objet d'un suivi quotidien, sept jours par semaine, par un personnel compétent qui peut déceler les problèmes liés au bien-être ou à la santé des souris et les résoudre au moyen des procédures normalisées de fonctionnement en vigueur, et qui assure la bonne tenue de registres et la production de rapports pour informer l'administration, l'équipe de soins vétérinaires et les chercheurs de l'établissement de tout changement.

Le grand nombre d'animaux hébergés est un élément important pour les personnes qui travaillent au sein de telles installations. Combiné à la petite taille des souris et à leur comportement de proie, il peut être difficile d'observer chaque animal et de déceler des problèmes particuliers. Lorsque le bien-être des animaux est menacé, il est nécessaire de tenir compte aussi des exigences additionnelles quant à la disponibilité du personnel (p. ex. pour la mise en œuvre de stratégies d'atténuation appropriées). Avec le chercheur et l'équipe de soins vétérinaires, le comité de protection des animaux devrait définir les observations nécessaires au-delà du suivi quotidien pour le modèle animal étudié ou pour un travail de recherche donné.

Pour l'observation des animaux, le personnel devrait employer des pratiques respectueuses du bien-être des souris (p. ex. ne pas taper sur les cages, manipuler les cages avec précaution).

L'incidence des changements de personnel, des odeurs et des parfums sur les animaux est traitée dans les [Lignes directrices du CCPA : les soins et la gestion des animaux en science](#) (CCPA, 2017). Les personnes qui travaillent avec des souris devraient éviter de porter des parfums et tout autre produit odorant.

4 ACQUISITION

Les personnes concernées devraient consulter les [Lignes directrices du CCPA sur : l'acquisition des animaux utilisés en science](#) (CCPA, 2007) pour prendre connaissance des principes généraux sur l'acquisition d'animaux qui s'appliquent à toutes les espèces. La présente section contient des renseignements supplémentaires qui concernent spécifiquement les souris.

4.1 SOURCE

Plusieurs modèles animaux, notamment les souris génétiquement modifiées, peuvent présenter un phénotype défavorable. Ces animaux ont besoin de soins spéciaux pour atténuer les préoccupations en matière de bien-être (Pritt et coll., 2006). Les chercheurs doivent être conscients que cela est probablement le cas pour les animaux avec lesquels ils travaillent (Pritt et coll., 2006), et informer tout le personnel de soins des animaux.

Parmi les nombreux problèmes pouvant entraver l'utilisation de lignées animales existantes, notons la protection de la propriété intellectuelle, les obstacles scientifiques (p. ex. l'insertion du gène d'intérêt dans un même site), les préoccupations relatives à la qualité des animaux, les erreurs d'analyse, l'utilisation de souches dont les antécédents génétiques sont compromis, la santé, la disponibilité et l'accessibilité. Néanmoins, les chercheurs devraient prendre les mesures raisonnables pour veiller à ne pas produire de nouvelles lignées de souris génétiquement modifiées lorsque des lignées pertinentes sur le plan scientifique existent déjà et sont accessibles. Voir l'annexe 2 pour la liste des bases de données des lignées de souris disponibles.

Si des procédures invasives n'ont pas été effectuées sur les souris, ces dernières peuvent être transférées à une autre étude ou à un autre protocole. Les chercheurs peuvent aussi se procurer des animaux préparés chirurgicalement, comme des souris ayant subi une surrenalectomie, une thymectomie ou une canulation, pour les inclure dans un protocole de recherche. Cependant, le déplacement devrait avoir lieu seulement si l'animal est apte au transport.

4.2 REGISTRES

Un système de documentation efficace devrait être mis en place pour fournir des informations sur l'identité et le bien-être des souris, y compris les problèmes de santé et tous les besoins particuliers, afin d'assurer des soins appropriés et des décisions éclairées à propos des procédures touchant les animaux. Cette information devrait accompagner l'animal et être accessible à toutes les personnes qui participent aux soins et aux procédures.

La nomenclature normalisée devrait être utilisée pour identifier les animaux, en particulier dans le cas de souris génétiquement modifiées. Voir le document [Guidelines for Nomenclature of Mouse and Rat Strains](#), publié conjointement par l'International Committee on Standardized Nomenclature for Mice et le Rat Genome and the Nomenclature Committee, pour des conseils mis à jour chaque année. Il importe de bien comprendre toutes les abréviations et de les utiliser de manière cohérente (p. ex. si une souris KO [knock-out] est par définition homozygote pour l'allèle nul $-/-$, alors KO ne devrait pas être utilisé pour une souris hétérozygote $+/-$).

Les souris génétiquement modifiées acquises par un établissement devraient être accompagnées de registres qui documentent l'information suivante :

- la nomenclature exacte de la souche et des modifications génétiques selon les [Guidelines for Nomenclature of Mouse and Rat Strains](#);
- les renseignements sur le phénotype de l'animal et son bien-être; les stratégies d'atténuation de la douleur et de la détresse et les points limites;
- les conditions particulières de soins et d'élevage (comme des exigences pour répondre aux besoins comportementaux ou nutritionnels, ou encore pour respecter une sensibilité aux variations de température);
- le protocole utilisé pour faire la distinction entre les animaux génétiquement modifiés et les animaux de souches sauvages;
- la stratégie d'archivage (comme la cryoconservation) ou l'emplacement externe de conservation des lignées.

4.3 EXPÉDITION ET RÉCEPTION

Des procédures normalisées de fonctionnement et de la documentation concernant le déplacement des animaux dans un établissement et l'acquisition des animaux auprès d'un autre établissement ou d'un fournisseur sont nécessaires. Ces procédures normalisées de fonctionnement devraient s'appliquer à toutes les souris en science, sans oublier celles qui servent de nourriture pour d'autres animaux (p. ex. espèces sauvages en captivité). Avant d'accepter de nouvelles souris génétiquement modifiées à des fins d'élevage, le comité de protection des animaux devrait s'assurer que le chercheur a établi un plan pour bien gérer l'élevage, y compris les moyens d'identifier le génotype d'intérêt.

Des plans de transport doivent être mis en place pour gérer les retards imprévus. Les installations devraient avoir une politique ou des procédures normalisées de fonctionnement pour l'évaluation des risques et la définition des précautions à prendre pour le transport (voir la section 5, « Transport », des [Lignes directrices du CCPA sur : l'acquisition des animaux utilisés en science](#) (CCPA, 2007)). Ce document devrait veiller à prévoir un itinéraire qui tient compte des conditions ambiantes. Les risques liés au transport devraient être évalués en fonction du type, de la durée et du moyen de transport, de la météo et de la probabilité de retards. L'évaluation des risques peut ne pas être nécessaire pour les déplacements de courte durée (moins d'une heure) si l'animal peut être ramené dans son environnement en cas de problème. Cependant, il est nécessaire de planifier tous les déplacements au sein d'un établissement, même ceux de courte distance, entre autres pour éviter de croiser des gens ou d'utiliser les ascenseurs publics.

4.4 TRANSPORT

4.4.1 Conditions d'expédition

Comme il est mentionné dans la section 5, « Transport », des [Lignes directrices du CCPA sur : l'acquisition des animaux utilisés en science](#) (CCPA, 2007), « [les établissements], en consultation avec les utilisateurs d'animaux (particulièrement en ce qui concerne les protocoles utilisant des espèces non traditionnelles ou des espèces sur le terrain), sont responsables de choisir la méthode et la période appropriées pour effectuer le transport des animaux en provenance des fournisseurs, et d'assurer un suivi du processus de transport ».

Une plage de température devrait être définie et des mesures devraient être prises pour protéger les souris contre une exposition à des températures hors de cette plage, comme le transport de nuit par temps chaud, avec des matériaux pour la litière et les nids en quantité suffisante pour la thermorégulation des souris pendant le voyage (Syversen et coll., 2008). Les souris sont plus sensibles aux températures extrêmes et aux changements brusques de température que les animaux de plus grande taille; il est donc important pour l'expéditeur d'assurer des conditions environnementales appropriées au maintien du bien-être des animaux. Voir Syversen et ses collègues (2008) pour en savoir plus sur la fréquence d'exposition à des températures inappropriées lors du transport.

Les souris doivent être transportées dans des boîtes de transport sécuritaires et incompressibles d'où elles ne peuvent pas s'échapper. Les boîtes conçues pour le transport des animaux devraient être suffisamment étanches pour renfermer tous les déchets, protéger les souris de sources potentielles de contamination, et éviter d'exposer le personnel et le public à des allergènes, des zoonoses ou d'autres risques (p. ex. biologiques, chimiques, radiologiques), en plus de mettre les animaux à l'abri des regards. Les boîtes contenant les souris doivent également disposer d'une ventilation adéquate, même si elles sont empilées. Pour les spécifications des boîtes (conteneurs), il faut se référer aux [Lignes directrices du CCPA sur : l'acquisition des animaux utilisés en science](#) (CCPA, 2007) et aux ouvrages de ILAR (2006) et Swallow et ses collègues (2005) pour de plus amples renseignements sur leur conception et construction.

Chaque souris transportée dans un contenant cloisonné doit pouvoir être identifiée en cas de bris d'un séparateur. La barrière devrait être construite de façon à empêcher les souris de passer à travers. Dans la mesure du possible, il devrait y avoir une ségrégation spatiale (c'est-à-dire des conteneurs distincts plutôt que des compartiments d'un même conteneur) des souris mâles et femelles arrivées à maturité sexuelle et des animaux de classes d'âge ou d'état de santé différents lors de leur transport.

Les souris doivent avoir de la nourriture et de l'eau avant et pendant le déplacement. Comme les souris perdent plus de chaleur, brûlent plus de calories et se déshydratent plus rapidement que les animaux de plus grande taille, on devrait prévoir au moins le double de la quantité normale de nourriture et d'eau pour la durée anticipée du déplacement, ce qui permet également de faire face à tout délai (CCPA, 2007). Le gel est la méthode indiquée pour l'hydratation des animaux pendant le transport. Les souris devraient en consommer la veille du déplacement pour s'acclimater. Pour éviter les dégâts, il ne doit pas y avoir de bol d'eau dans le conteneur; les souris au pelage mouillé peuvent rapidement souffrir d'hypothermie selon la température extérieure.

Le transport d'embryons ou de sperme cryoconservés peut être une solution si le bien-être des souris peut être compromis par le transport de longue durée ou si les animaux ne sont pas aptes au transport. Cette remarque vaut particulièrement pour les souris génétiquement modifiées. Toutefois, les établissements qui font l'acquisition d'embryons ou de sperme congelé doivent disposer des installations nécessaires à leur manipulation. Les personnes qui participent au transport des souris devraient connaître les toutes dernières améliorations aux méthodes employées (voir Takeo et coll., 2014).

Les établissements qui se procurent des gamètes devraient savoir que ces cellules peuvent être une source de contamination et d'introduction de pathogènes dans les installations (Janus et Bleich, 2012).

4.4.2 Transport de souris d'un établissement à l'autre

On devrait veiller à ne pas déplacer les souris dont le bien-être est déjà compromis dans la mesure où le transport leur cause de la détresse.

Un groupe de travail créé par l'American Association for Laboratory Animal Science et la Federation of European Laboratory Animal Science Associations a conçu un formulaire relatif à la surveillance de la santé qui permet aux établissements de partager les renseignements sur la santé des animaux (Pritchett-Corning et coll., 2014).

4.4.3 Transport de souris au sein d'un établissement

Les déplacements de courte durée (p. ex. au sein d'un établissement) devraient être effectués selon des politiques ou des procédures normalisées de fonctionnement qui visent la protection des animaux et du personnel.

Les souris devraient être transportées dans une cage ou un contenant fermé et sécurisé. Les cages d'origine peuvent être utilisées si elles sont sécuritaires et ne contiennent aucune bouteille d'eau. La cage devrait toujours être à l'horizontale pendant le transport pour optimiser la ventilation, minimiser le risque d'accident et empêcher les animaux de s'échapper. Le personnel qui s'occupe du transport devrait choisir une méthode de transport qui réduit les vibrations et le bruit, car les souris y sont sensibles. Par exemple, une serviette ou un drap plié installé entre le chariot et la cage réduit significativement les vibrations (Hurst et Litwak, 2012).

La météo doit être prise en compte lors de déplacement extérieur de souris d'un édifice à un autre. Des précautions doivent être prises pour protéger le bien-être des animaux qui seront transportés dans des conditions météorologiques extrêmes, été comme hiver. Les souris ne doivent pas être laissées sans surveillance dans une zone non sécuritaire pendant le transport; elles devraient être dans un lieu sûr, et le personnel devrait s'en occuper immédiatement à l'arrivée.

4.5 RÉCEPTION DES SOURIS

Principe directeur 11

L'état de santé des souris devrait être évalué avant que les animaux soient expédiés.

Les souris sont obtenues auprès de diverses sources, comme des fournisseurs commerciaux ou des laboratoires indépendants qui partagent des animaux. Comme l'a fait remarquer Shek (2008), les animaux importés proviennent « d'établissements de recherche aux pratiques diverses en matière de biosécurité, d'élevage et de surveillance de la santé. En conséquence, il peut y avoir des problèmes d'infestations parasitaires et d'infections microbiennes chez ces animaux, contrairement aux rongeurs exempts de micro-organismes pathogènes spécifiques offerts par fournisseurs commerciaux [notre traduction] ».

En plus d'examiner l'état de santé des souris avant leur arrivée, il est important d'obtenir autant de détails que possible sur les soins et d'autres pratiques de l'établissement expéditeur. Cette information aide à définir les conditions de quarantaine auxquelles les animaux seront soumis à leur arrivée.

Des procédures normalisées de fonctionnement devraient décrire les conditions de réception et comprendre des instructions de déballage des boîtes de transport pour les aspects suivants :

- la vérification pour s'assurer que les animaux reçus sont bien ceux commandés;
- la décontamination des surfaces extérieures des boîtes réutilisables;
- l'ouverture des boîtes de manière à ce que les animaux ne puissent s'échapper;

- l'ouverture de la boîte et le transfert des souris dans leur cage, préférablement sous une hotte à flux laminaire;
- la manipulation des souris de façon à éviter toute contamination (p. ex. ne pas toucher aux souris après avoir touché à la surface de la boîte);
- l'inspection pour s'assurer que tous les animaux ont été retirés des boîtes de transport;
- le traitement des animaux malades ou morts à leur arrivée à destination.

L'état des animaux devrait être évalué à leur arrivée, selon les procédures normalisées de fonctionnement de l'établissement. Un examen visuel des souris permet entre autres de déterminer si un traitement immédiat est requis (p. ex. un cas de déshydratation ou de traumatisme). Il est également important de placer en observation les animaux reçus d'un expéditeur pour s'assurer que les nouveaux groupes de souris sont composés d'animaux compatibles.

Les animaux introduits dans les installations doivent être mis en quarantaine dès réception si leur état de santé l'exige.

Il est important de prévoir une période d'acclimatation, qui peut avoir lieu en même temps que la quarantaine, pour atténuer tout stress lié au transport et s'assurer du retour à l'état physiologique normal de l'animal. Le temps requis dépend des conditions de transport, de l'âge des animaux et des animaux concernés; par exemple, une période d'acclimatation prolongée peut être requise pour des animaux dont le génotype est associé à la sensibilité au stress (Obernier et Baldwin, 2006). Cette période devrait servir pour habituer les animaux à la méthode de distribution des aliments et de l'eau et à leur nouvel environnement. Les animaux devraient également être acclimatés aux conditions et aux procédures de l'étude réalisée chez la souris éveillée.

4.6 ACQUISITION DE SOURIS UTILISÉES COMME NOURRITURE

Les souris destinées à l'alimentation d'autres animaux (p. ex. des animaux sauvages, des reptiles) devraient provenir de fournisseurs renommés comme il est mentionné dans les [*Lignes directrices du CCPA sur : l'acquisition des animaux utilisés en science*](#) (CCPA, 2007), ceci afin d'éviter de faire entrer dans les installations des animaux malades ou ayant été contaminés. Le type de boîte de transport et les procédures de transport et de réception devraient répondre aux exigences liées aux autres souris. Un protocole est nécessaire pour l'acquisition ou l'élevage de souris qui seront utilisées comme nourriture pour d'autres animaux dans l'établissement. Les souris vivantes ne devraient pas servir de nourriture.

5 ÉLEVAGE

Principe directeur 12

Les colonies d'élevage devraient être gérées avec efficacité, selon les protocoles approuvés, les effectifs anticipés et en respectant les principes des Trois R.

Des facteurs comme la nécessité d'un programme d'élevage, l'existence de fournisseurs et la disponibilité d'infrastructures et de spécialistes doivent être pris en considération avant d'entreprendre l'élevage à l'interne (voir la section 4.2 sur l'élevage de colonies à l'interne dans les *Lignes directrices du CCPA sur : l'acquisition des animaux utilisés en science* (CCPA, 2007)). Un grand nombre d'animaux peut également être nécessaire au maintien des colonies d'élevage de souris génétiquement modifiées. Tous les animaux d'une colonie d'élevage devraient être documentés dans le protocole, accompagné de l'évaluation de leur phénotype pour éviter la dérive génétique et les problèmes de bien-être (voir la section 8, « Évaluation du bien-être animal »).

Les protocoles d'élevage doivent être approuvés par le comité de protection des animaux. Dans ce cadre, les effets attendus ou prévus de la modification génétique sur la santé des souris doivent être évalués et des stratégies pour les atténuer doivent être mises en place. Ces protocoles devraient également inclure des pratiques de dépistage pour identifier les animaux appropriés en fonction de leur génotype ou de leur phénotype. Le responsable de l'animalerie ou le vétérinaire de l'établissement peut aider à l'élaboration des protocoles d'élevage d'un établissement.

Une fois que l'on a réussi à produire ou à acquérir le phénotype désiré ou la modification génétique souhaitée, il est nécessaire d'établir une stratégie d'élevage pour les lignées d'animaux génétiquement modifiés qui feront l'objet d'études. Des pratiques bien établies pour la gestion des colonies et la surveillance des animaux sont nécessaires pour assurer le bien-être animal et la qualité des données expérimentales.

5.1 SURVEILLANCE ET TENUE DE REGISTRES

La tenue de registres est extrêmement importante pour assurer une gestion efficace des colonies d'élevage, notamment pour la détection des maladies et de leur propagation ainsi que pour la reproductibilité des expériences (Casellas, 2011). Les détails suivants doivent être consignés dans les registres :

- l'information sur les animaux du programme d'élevage (p. ex. la source, la date de naissance, le marquage de l'individu comme une entaille à l'oreille ou un tatouage, l'état de santé, l'information et l'origine génétique, la productivité, les soins et les traitements reçus);
- les exigences en matière d'hébergement, de soins et de gestion;
- les phénotypes (y compris les comportements) attendus ou démontrés;
- les maladies et les traitements;

- les paramètres d'élevage comme la fertilité, la fécondité, la morbidité et la mortalité;
- les objectifs expérimentaux;
- les critères d'exclusion de l'élevage.

Les cartes de cages des animaux sont importantes comme référence visuelle rapide. En plus des cartes des cages d'élevage qui devraient indiquer la date de naissance des portées de la colonie et la date de sevrage prévue pour les souriceaux, des registres sont nécessaires pour la gestion des programmes d'élevage. La tenue de ces registres peut être complexe si de nombreuses souches consanguines sont hébergées dans la même salle ou la même installation; dans ces cas, une gestion informatisée est fortement recommandée. Les logiciels conçus à cet effet permettent de recevoir une notification automatique concernant le moment du sevrage d'un animal et de consulter les antécédents de chaque animal. Tyeus (2006) décrit les avantages des bases de données relationnelles pour la gestion des systèmes d'élevage qui comptent plus de 100 animaux sur trois générations, , comme celle de [JAX](#) en libre accès.

Les améliorations apportées aux systèmes de gestion des données ou des registres numérisés permettent d'établir des relations entre le protocole, les processus d'examen de ces protocoles, les responsables des subventions, les administrateurs financiers et la gestion des données sur les ressources humaines (comme la formation et la certification du personnel). Les mesures qui consistent à mettre à profit la gestion des registres numérisés pour la gestion des colonies de souris permettent de faciliter l'intégration des données sur les animaux dans ce type de système. Les systèmes numériques de gestion de colonies et l'ajout d'infrastructures ou d'applications informatiques pourraient être envisagés dans la planification et la dotation de nouvelles ressources pour les soins des animaux.

Les registres d'élevage doivent être disponibles pour les équipes de vétérinaires, le personnel de santé animale et les comités de protection des animaux pour s'assurer que les procédures appropriées sont suivies. Des mesures de surveillance post-approbation devraient être mises en œuvre pour s'assurer que les procédures normalisées de fonctionnement et les protocoles approuvés par les établissements sont suivis, et pour évaluer leur efficacité. L'accès partagé aux registres numérisés peut faciliter cette tâche.

Les chercheurs qui ont obtenu l'approbation de faire de l'élevage doivent démontrer leurs compétences pour la gestion de colonies d'élevage (voir les [Lignes directrices du CCPA sur : la formation du personnel qui travaille avec des animaux en science](#) (CCPA, 2015)) et l'engagement de leur équipe à tenir des dossiers complets.

Dans une colonie d'élevage, les données sur les animaux (notamment le dénombrement des nouveau-nés et des animaux sevrés) doivent être consignées et transmises chaque année au comité de protection des animaux de l'établissement. Le nombre de naissances devrait être déterminé dès qu'il est possible de le faire sans déranger les animaux, et enregistré pour chaque lignée. Dans le rapport annuel soumis au comité de protection des animaux lors d'un renouvellement de protocole, on devrait également inclure l'information sur le système d'élevage, la fonction reproductrice (notamment les changements soudains qui peuvent être des indices de contamination génétique), la morbidité et la mortalité (en fonction du nombre d'animaux nés et sevrés), les critères utilisés pour l'euthanasie des animaux et d'autres facteurs liés à la gestion du programme d'élevage pour répondre aux exigences de la recherche tout en évitant la surproduction d'animaux.

5.2 IDENTIFICATION DES ANIMAUX D'ÉLEVAGE

Des procédures pour l'identification en temps opportun des fondateurs génétiquement modifiés et de leur progéniture devraient être ajoutées au protocole d'élevage et soumises pour approbation au comité de protection des animaux avant le début de l'élevage (voir la section 6.1, « Identification des animaux », et l'annexe 3

pour une comparaison de méthodes d'identification des souris). Pour plus de détails sur certaines méthodes d'identification, voir Dahlborn et ses collègues (2013).

Les souris produites dans le cadre d'un élevage à long terme doivent être identifiées par un marquage permanent (voir la section 6.1, « Identification des animaux »).

5.3 CONSIDÉRATIONS POUR LA GESTION DE L'ÉLEVAGE

Comme pour l'élevage de tous les autres animaux, on doit limiter la production de souris excédentaires. Une planification soignée permet bien souvent d'éviter la surproduction (Finlay et coll., 2015). La communication avec les chercheurs ou les directeurs d'étude et avec les responsables des animaleries est essentielle pour prévoir le nombre d'animaux requis. Il est recommandé d'offrir une formation particulière aux personnes qui participent aux activités d'élevage de colonie.

Un suivi rigoureux des animaux (notamment le nombre d'animaux nouveau-nés, sevrés, transférés sur protocole expérimental) fournit aux chercheurs et aux comités de protection des animaux des données utiles pour mettre en œuvre les Trois R. Cela permet également d'éviter la production d'un nombre insuffisant d'animaux. À cet effet, un logiciel de gestion de colonie (Hetherington et coll., 2000) permet d'assurer une gestion efficace de l'élevage, et ainsi de réduire le nombre de reproducteurs et de produire le nombre requis de petits.

Des stratégies devraient être mises en place pour l'utilisation des animaux excédentaires produits. Ces derniers peuvent, par exemple, être utilisés pour la formation ou le prélèvement d'échantillons tissulaires et sanguins destinés à un usage futur, ou encore être utilisés comme nourriture vivante. Un registre des animaux excédentaires peut être offert aux chercheurs. Voir les recommandations du CCPA (2014) pour les meilleures pratiques de facilitation du partage des animaux et des tissus animaux.

La sélection des animaux reproducteurs devrait reposer sur des caractéristiques génétiques et des facteurs associés à leurs antécédents et à leur santé qui peuvent avoir une incidence sur leur taux de reproduction et les exigences des études. Les différences dans les performances de reproduction (Byers et coll., 2006; [JAX](#)) chez les différentes souches devraient être pris en considération. La gestion de l'élevage devrait viser à réduire au minimum la contamination génétique et un programme devrait être mis en place pour surveiller et limiter la dérive génétique.

Les mutations délétères se traduisent fréquemment par une réduction de la performance de reproduction. Il ne faut pas conserver les animaux porteurs de ces mutations et les reproduire à moins que cela ne soit le sujet de la recherche. Toutefois, dans le cas de mutations subtiles, la contamination du génome peut s'être produite plusieurs générations avant que le changement de phénotype soit observé. Une analyse du génome s'impose pour détecter de tels cas puisque le contrôle de la progéniture selon le phénotype s'avère insuffisant (Casellas, 2011; Fahey et coll., 2013).

Pour les animaux non consanguins, les populations fondatrices devraient être assez nombreuses pour assurer à long terme l'hétérogénéité génétique de la colonie (Chia et coll., 2005). Nomura et Yonezawa (1996) comparent quatre systèmes de groupe d'accouplement utilisés pour éviter la consanguinité.

Il incombe aux chercheurs de décrire le phénotype des souches avec lesquelles ils travaillent et de partager cette information avec le comité de protection des animaux et le vétérinaire. Les chercheurs, les comités de protection des animaux et les vétérinaires devraient concevoir ensemble le programme de phénotypage, et ce programme devrait être décrit dans un protocole approuvé par le comité de protection des animaux.

La surveillance des animaux qui présentent un phénotype létal ou gravement nuisible au bien-être animal doit être menée et devrait être le fruit d'une collaboration entre les chercheurs, le personnel de soins aux animaux et les vétérinaires. Cette collaboration est importante pour bien choisir les indicateurs de bien-être, et permettre d'identifier les animaux ayant des phénotypes d'intérêt avant que ceux-ci ne soient euthanasiés.

Des mesures adéquates de biosécurité doivent être mises en place pour prévenir la contamination génétique ou la contamination par des agents pathogènes des lignées de souris.

5.3.1 Systèmes d'élevage

Les systèmes d'élevage peuvent varier énormément d'une souche à l'autre. Les facteurs à considérer pour l'élevage incluent, entre autres, la souche ou le stock (souris exogames ou consanguines), l'espace disponible, l'accouplement post-partum, le maintien d'un état de santé précis (Harkness et coll., 2010; Hampshire et Davis, 2005; Murray et Parker, 2005; Pritchett-Corning, 2011). De plus, il a été démontré que le type de système d'élevage a une incidence sur le comportement des mères et des petits ainsi que sur le poids des souriceaux sevrés qui varie selon les différentes souches (Braden et coll., 2017). Les chercheurs devraient collaborer avec le personnel de soins aux animaux et de soins vétérinaires pour établir la meilleure stratégie d'élevage (incluant la réduction au minimum du nombre de souris excédentaires) en fonction de l'étude.

L'élevage par groupes de trois (un mâle, deux femelles) et le retrait des nouveau-nés au sevrage rentabilisent l'utilisation de l'espace dans les cages. Cependant, cela peut compliquer la tenue des registres d'élevage (Harkness et coll., 2010) et causer un surpeuplement des cages (voir la section 2.1.1.1, « Taille de la cage ») ou freiner la reproduction (Garner et coll., 2016).

La formation de paires monogames simplifie la tenue de registres et permet l'accouplement post-partum, ce qui maximise le nombre de portées par femelle mais exige un grand nombre de mâles (Harkness et coll., 2010).

Quant à l'élevage polygame ou en harem qui exige l'isolement des femelles gestantes, il a pour résultats une meilleure lactation, des petits de plus grande taille et un plus grand nombre de petits sevrés par portée. Cependant, ce système n'utilise pas l'accouplement post-partum et réduit le nombre de portées par femelle (Harkness et coll., 2010). Pour plus de détails sur les systèmes d'accouplement courants, voir Baumans (2010), Harkness et ses collègues (2010) et Berry et Linder (2007).

Peu importe le système d'élevage, des mesures doivent être prises pour limiter la production d'animaux excédentaires et la perte de nouveau-nés en raison de la présence de petits plus âgés mais pas encore sevrés. Cela comprend l'approbation du programme d'élevage par le comité de protection des animaux, la surveillance étroite du succès reproducteur et la déclaration du nombre de nouveau-nés et de souriceaux sevrés auprès du comité de protection des animaux. Une procédure normalisée de fonctionnement devrait décrire le programme d'élevage approuvé par le comité de protection des animaux et les soins pour les souris reproductrices et leurs petits.

Pour l'élevage à court terme (p. ex. élevage de souris pour l'étude des produits de reproduction ou du comportement de reproduction), un programme d'élevage n'est pas nécessaire lorsque la souche n'est pas destinée à être maintenue. De bonnes pratiques d'élevage et de tenue de registres devraient néanmoins être en place.

5.3.2 Âge de reproduction

L'âge idéal pour la reproduction de la souris dépend d'un certain nombre de facteurs. La reproduction se fait pour la première fois lorsque les souris ont au moins 50 jours; elles pèsent alors entre 20 et 30 g (Harkness et coll., 2010). À plus de 70 jours ou moins de 50, les femelles ont une fertilité réduite (Harkness et coll., 2010).

Une bonne tenue de registres sur la fonction reproductrice des animaux est importante, car les reproducteurs devraient être remplacés en fonction de leur performance. Des critères spécifiques à une souche donnée, tels que la taille de la portée, le poids des petits, le nombre de souriceaux nés et sevrés, sont utilisés pour déterminer quand il faut remplacer les reproducteurs (Harkness et coll., 2010; Murray et Parker, 2005), on peut utiliser également d'autres critères tels que l'intervalle entre les portées et l'état de santé général des animaux. Un élevage inefficace entraîne une augmentation du nombre d'animaux nécessaires pour produire un nombre donné de petits.

Selon la souche murine, les femelles peuvent avoir des portées jusqu'à l'âge de 6 à 8 mois (Berry et Linder, 2007). Après 8 mois, les portées sont moins nombreuses et la parturition est difficile (Baumans, 2010). Les mâles peuvent cependant se reproduire plus longtemps (Berry et Linder, 2007), mais ils ne devraient pas être utilisés pour l'élevage au-delà passé l'âge d'un an en raison de la susceptibilité accrue aux maladies liée au vieillissement et à la diminution de l'efficacité de la reproduction.

5.3.3 Sevrage

Selon la souche, les souris devraient être sevrées vers l'âge de 21 à 28 jours ou lorsqu'elles atteignent un poids entre 10 et 12 g (Baumans, 2010; Harkness et coll., 2010). Le sevrage des souris de lignées à développement lent devrait avoir lieu à l'âge de 28 jours (Harkness et coll., 2010). L'âge de sevrage intervient dans le comportement et le dimorphisme sexuel du cerveau (Curley et coll., 2009b). Le sevrage avant l'âge de 21 jours peut entraîner plus d'anxiété chez les petits et réduire les comportements maternels à maturité et la capacité à s'adapter à des groupes (Kikusui et coll., 2005). Les méthodes de sevrage devraient faire partie des procédures normalisées de fonctionnement approuvées par le comité de protection des animaux et décrire les soins pour les souris reproductrices et à leurs petits.

Pour certaines souches issues du génie génétique avec des anomalies de développement, il est préférable d'attendre que les souriceaux soient âgés de 28 jours, sauf si la cage est surpeuplée ou si la souris a déjà été accouplée lors de l'oestrus post-partum. Si une longue période de sevrage est prévue, la fécondation post-partum est déconseillée.

Les souriceaux nouvellement sevrés devraient faire l'objet d'un suivi étroit pour s'assurer qu'ils ont accès à des aliments, à de l'eau et à des matériaux de nidification. Dans un premier temps et jusqu'à ce que les souris subviennent seules à leurs besoins, la nourriture peut être déposée sur le fond de la cage, l'eau distribuée par divers moyens (une bouteille d'eau ou un substitut d'eau, par exemple un gel, en plus d'un abreuvoir automatique), et des matériaux de nidification partiellement découpés pour en faciliter l'utilisation.

5.3.4 Fécondation post-partum

Chez la souris, le post-partum se produit dans les 14 à 28 heures après la mise bas (Foster et coll., 1983). En misant là-dessus pour les accouplements, on obtient le plus grand nombre de portées dans les plus brefs délais. Dans ces conditions, il est toutefois possible de perdre des nouveau-nés qui se retrouvent en rivalité avec des souriceaux non sevrés de la portée précédente, ces derniers l'emportant dans la lutte pour la nourriture

(Hickman et Swan, 2011). Ce système peut également entraîner un surpeuplement des cages ou encore des problèmes de santé et de bien-être chez les femelles reproductrices.

5.3.5 Cryoconservation

Les techniques d'archivage peuvent réduire le nombre d'animaux utilisés. Ces techniques offrent les possibilités suivantes :

- assurer une réserve en cas de pertes nombreuses au sein d'une colonie d'élevage;
- résoudre les problèmes de baisse de la fécondité liés à l'âge;
- conserver une lignée qui ne fait pas partie d'études en cours;
- limiter la dérive génétique, notamment la perte de la fonction de l'expression transgénique sur plusieurs générations;
- repeupler une colonie d'élevage;
- partager une lignée de souris génétiquement modifiée plutôt que d'en produire une autre avec les mêmes caractéristiques;
- faciliter le partage d'une lignée lorsque le transport est la source d'un stress considérable chez l'animal.

La cryoconservation des gamètes et des embryons devrait être utilisée pour éviter la dérive génétique ou la perte d'une lignée due à une maladie, une contamination, une erreur humaine dans le dépistage et la gestion des colonies d'élevage ou une catastrophe comme un incendie ou une inondation (Takahashi et Liu, 2010). Il peut également être plus rentable d'utiliser la cryoconservation pour préserver les lignées qui ne sont pas actuellement utilisées pour la recherche, plutôt que de garder des animaux vivants (Takahashi et Liu, 2010). Voir Prins (2011), Mochida et ses collègues (2011) et Takeo et Nakagata (2011) pour la description des méthodes de cryoconservation et de récupération.

Des services de cryopréservation sont également offerts. Les échantillons cryoconservés devraient être stockés dans deux endroits différents pour éviter la perte des gamètes et des embryons. Voir la section 2.3, « Installations dédiées pour la production de souris génétiquement modifiées ».

5.4 FACTEURS INFLUANT SUR L'ÉLEVAGE

5.4.1 Facteurs environnementaux

La section 3, « Gestion des installations et du personnel », traite de l'éclairage, de la température, de l'humidité relative, du bruit et des vibrations. Comme il est indiqué dans cette section, un cycle de 14 heures d'éclairage et 10 heures d'obscurité est idéal pour la reproduction, quoique des périodes de 12 heures soient aussi acceptables. Il est important de ne pas nuire à la période de noirceur, car l'ouverture rapide d'une porte suffit pour affecter la fonction reproductrice des rongeurs (Bedrosian et coll., 2013). De plus, il est important d'héberger les reproducteurs loin des sources de bruit et de vibrations ou de prendre des mesures pour en réduire les effets.

Pour les souriceaux de 3 semaines ou moins, il peut être nécessaire de maintenir une température ambiante plus élevée que la normale pour les souris qui est de 24 à 26 °C; c'est-à-dire que la température ambiante devrait être dans la limite supérieure de cette fourchette (Gordon, 1993). La présence de matériaux de nidification peut cependant avoir une influence sur la température effectivement requise.

Comme il est mentionné dans la section 1.2, « Capacités sensorielles », les odeurs peuvent avoir une influence sur divers aspects de la reproduction et les interactions entre les femelles et leurs petits. Le contexte d'hébergement (c'est-à-dire la présence ou non d'autres souris) et les dérangements dus à des activités comme le nettoyage des cages qui perturbe les phéromones peuvent affecter la reproduction chez la souris (Hurst, 2005; Bind et coll., 2013) et la qualité des soins maternels (Bind et coll., 2013).

5.4.2 Influence de l'hébergement et des soins

La taille des cages et les exigences quant aux matériaux de litière et de nidification sont examinées dans la section 2, « Animaleries ». On devrait conserver le même type de cage durant toute l'étude, car un changement peut avoir une incidence sur l'élevage (Czarnomska et Wezyk, 1974; Porter et coll., 1963). Il est important pour les souris d'avoir accès à des matériaux de nidification, surtout pendant la reproduction. En présence de ces matériaux, il y a un plus grand nombre de souriceaux nés et sevrés (Gaskill et coll., 2013c). Toutes les souris de laboratoire sont hébergées sous leur température minimale critique, généralement entre 26 et 28 °C (Gordon, 1993; Speakman et Keijer, 2013), et ce même si le stress thermique peut être plus important chez les souris nues. Par conséquent, la reproduction peut être améliorée si les souris peuvent adopter un comportement favorisant la thermorégulation pour réduire la perte de chaleur (Gaskill et coll., 2013a; Gaskill et coll., 2013c; Gaskill et coll., 2013d).

La cage d'une femelle qui vient de mettre bas ne devrait pas être nettoyée pendant quelques jours pour éviter de déranger les nouveau-nés. Si un nettoyage ou un changement de litière est nécessaire au cours des premiers jours, une partie du nid devrait être transférée dans la nouvelle cage (Harkness et coll., 2010).

5.5 PROBLÈMES DE SANTÉ

Lorsque de nouvelles lignées sont produites, les chercheurs ne connaissent pas nécessairement les phénotypes des souris produites. Le vétérinaire doit, dans ces cas, participer à la prise de décisions au sujet des soins et du bien-être de ces animaux.

Si des problèmes de santé se produisent, le vétérinaire doit être consulté pour s'assurer qu'ils sont traités promptement. Des procédures normalisées de fonctionnement devraient être en place pour résoudre les problèmes de santé courants associés à l'élevage, notamment la mortalité des souriceaux non sevrés, la dystocie et le prolapsus vaginal ou rectal. En général, chaque lignée a ses propres problèmes de santé.

La construction du nid avant la naissance des petits et l'absence de complication lors de la mise bas sont des facteurs importants pour la survie des petits. D'ailleurs, on constate une augmentation notable du taux de survie des souriceaux lorsque les femelles démontrent un comportement de construction de nid, et une baisse du taux de survie des souriceaux lorsque les femelles sont en dehors de leurs nids (Weber et coll. 2016).

Le cannibalisme n'est pas nécessairement une cause de la mortalité des souriceaux. Si les parents dévorent souvent les souriceaux morts, Weber et ses collègues ont par ailleurs noté que les femelles C57BL/6 ne tuent pas leurs petits (Weber et coll., 2013a; Weber et coll., 2013b). En cas de cannibalisme, des mesures doivent être en place pour réduire au minimum ce comportement même si ce n'est pas nécessairement une cause de la mortalité des souriceaux. Des mesures comme la réduction du bruit et de l'intensité de l'éclairage, la présence de matériel de nidification (Baumans, 2010) ou deux jours de tranquillité pour les femelles après la mise bas peuvent être utilisées (Harkness et coll., 2010), même si cela complique la tâche de surveillance des animaux (Weber et coll., 2016).

5.6 GÉNOTYPAGE

Le génotypage est important pour déterminer la constitution génétique d'une souris qui a été modifiée par génie génétique et pour surveiller les risques de dérive génétique des colonies d'élevage. La méthode de génotypage (ou la sous-traitance de cette activité à des spécialistes) doit être approuvée par le comité de protection des animaux et définie dans des procédures normalisées de fonctionnement.

Le choix de la méthode pour obtenir du matériel génétique devrait être fondé sur les critères suivants : 1) la réduction au minimum de la douleur et la détresse chez l'animal; 2) la quantité de tissu nécessaire en fonction du type d'analyse requis; 3) la possibilité d'utiliser le même échantillon de tissu que celui prélevé pour l'identification de l'animal (voir les sections 5.2, « Identification des animaux d'élevage », et 6.1, « Identification des animaux »). Voir l'annexe 4, « Pratiques recommandées pour le génotypage » pour une synthèse des préoccupations liées au bien-être animal et des raffinements possibles pour les différentes techniques de génotypage.

SOINS ET GESTION

6

En matière de soins et de gestion des animaux en général, les [Lignes directrices du CCPA : les soins et la gestion des animaux en science](#) (CCPA, 2017) devraient être consultées. La présente section contient des renseignements supplémentaires qui sont importants pour les souris.

6.1 IDENTIFICATION DES ANIMAUX

Lorsqu'il est nécessaire d'identifier chaque souris, les techniques les moins invasives devraient être utilisées. Pour l'identification de courte durée, il est possible d'utiliser des techniques comme les encres ou les marqueurs non toxiques ou la tonte. Par contre, si une identification permanente est nécessaire, des techniques comme les puces électroniques et les transpondeurs, les tatouages, les étiquettes ou les entailles à l'oreille sont des options possibles (d'autres exemples sont présentés à l'annexe 3, « Méthodes d'identification des souris »).

Une nomenclature normalisée devrait être utilisée pour l'identification des souris génétiquement modifiées, et cette information devrait être jointe à la documentation qui accompagne chaque animal.

6.2 GESTION DE L'HÉBERGEMENT

Un hébergement adapté aux besoins physiologiques et comportementaux des souris offre entre autres la possibilité de contacts sociaux, de comportements d'exploration et d'activités locomotrices, comme décrit dans la section 1.1, « Biologie comportementale ». La section 2.1.1.1, « Taille de la cage », explique les exigences spatiales pour les souris. La taille de la cage des souris devrait permettre l'hébergement en groupe (Clipperton-Allen et coll., 2015) et l'installation d'un abri (Van Loo et coll., 2004, Clipperton-Allen et coll., 2015).

Les comportements anormaux comme les stéréotypies sont souvent associés à un environnement pauvre et doivent être considérés comme un signe de stress. Des efforts doivent être faits pour réduire le développement de tels comportements en permettant aux souris de réaliser des comportements naturels importants pour elles. Les milieux enrichis semblent réduire l'occurrence de certains comportements anormaux (Bechard et coll., 2011; Gross et coll., 2012), mais d'autres facteurs peuvent contribuer au développement de comportements anormaux incluant les stéréotypies. Par exemple, on observe une corrélation positive entre le comportement stéréotypé chez les femelles de certaines souches de souris et la taille de la portée (Bechard et coll., 2012) ou encore l'âge et le poids au moment du sevrage (Würbel et Stauffacher, 1997).

Il est très difficile, voire impossible, de mettre fin aux stéréotypies et aux comportements anormaux une fois acquis. Le toilettage excessif (*barbering*, arrachage de poils ou trichotillomanie) est un comportement acquis qui peut être transmis à la progéniture et aux autres souris hébergées. Les femelles sont plus susceptibles d'adopter ce comportement. L'incidence du *barbering* est liée au potentiel de reproduction et au patrimoine génétique (Garner et coll., 2004a), mais la conception et l'emplacement de la cage, la proximité des congénères et la présence de sujets qui s'arrachent les poils influent également sur l'incidence de ce comportement (Garner et coll., 2004b). Il ne semble pas être question de dominance (Garner et coll., 2004b), mais plutôt de certaines conditions comme un environnement pauvre (Bechard et coll., 2011) ou une alimentation déficiente (Dufour et coll., 2010). Le toilettage excessif devrait être évalué et abordé comme une atteinte au

bien-être (Tynes, 2013). Pour d'autres exemples de comportement anormaux, voir la section 1.1, « Biologie comportementale ».

6.2.1 Hébergement en groupes

Principe directeur 13

Les souris devraient être hébergées en groupes.

Les souris mâles et femelles préfèrent de loin être hébergées en groupes (Sherwin, 1996a; Van Loo et coll., 2004; Van Loo et coll., 2001a).

Les bagarres qui se soldent par des blessures, mortelles ou non, sont fréquentes chez les souris de laboratoire mâles. Les comportements agressifs chez les mâles hébergés en groupe sont un problème qui doit être réglé sur-le-champ.

Il peut être possible de réduire les comportements agressifs chez les souris mâles si on améliore les conditions d'hébergement avant la formation des groupes (Van Loo et coll., 2001; Clipperton et coll., 2015; Weber et coll., 2017), d'après une évaluation documentée du risque de blessures lors des combats entre animaux. Les conseils suivants permettent de réduire ou d'éviter les agressions entre congénères :

- assurer la stabilité des groupes d'animaux après la puberté – comme les comportements agressifs peuvent se manifester dans les 32 à 36 jours après la naissance, l'introduction d'animaux dans un groupe devrait se faire avant cet âge (Gaskill, 2014);
- veiller à ce que les cages dans lesquelles des groupes de souris mâles sont hébergés contiennent des ressources en quantité suffisante pour limiter l'agressivité (Baumans et Van Loo, 2013; Clipperton-Allen et coll., 2015) – la présence d'un seul abri ou d'un seul élément d'enrichissement peut faire augmenter les comportements agressifs provoqués par une concurrence pour les ressources (Van Loo et coll., 2003; Howerton et coll., 2008);
- prévoir un aménagement qui permet aux animaux d'échapper au regard de congénères ou de s'isoler de plusieurs façons (Gray et coll., 2000) tout en veillant à ce que les ressources du milieu ne donnent pas lieu à des comportements agressifs (Van Loo et coll., 2003) – par exemple, Tallent et ses collègues (2018) ont montré que des cages aménagées avec des demi-cloisons pour créer un terrier avec une aire de vie commune peuvent réduire l'agressivité;
- maintenir la température ambiante entre 20 et 22 °C (Weber et coll., 2017), et fournir des matériaux de nidification (Weber et coll., 2017; Van Loo et coll., 2003);
- combiner le nettoyage des cages avec d'autres activités pour éviter de déranger les animaux, et transférer des matériaux de nidification dans les nouvelles cages qui contient le marquage odorant des souris (les matériaux de litière ne devraient pas être transférés, car cela est associé à une hausse de l'agressivité (Van Loo et coll., 2003; Weber et coll., 2017));
- héberger séparément les mâles ayant été accouplés (Annas et coll., 2013);
- réduire la taille des groupes à trois animaux par cage (Weber et coll., 2017; Van Loo et coll., 2001b).

Réduire le stress et la douleur lors de la manipulation des souris et de la réalisation de procédures, soulager la douleur au besoin, et éviter l'exposition possible à des perturbateurs endocriniens sont quelques recommandations générales pour réduire l'agressivité (Weber et coll., 2017).

6.2.2 Hébergement individuel

L'hébergement individuel est permis que dans des cas exceptionnels et sur justification scientifique ou médicale. L'isolement social a une incidence sur divers paramètres liés au stress (Kalliokoski et coll., 2014; Nary et coll., 2002; Arndt et coll., 2009; Koike et coll., 2009), ce qui peut également influencer sur les données expérimentales. L'hébergement individuel peut toutefois être nécessaire pour certains mâles agressifs qui se battent (Kappel et coll., 2017) si les mesures mentionnées à la section 6.2.1, « Hébergement en groupes », sont insuffisantes pour régler les problèmes d'agressivité. Pour le bien-être des animaux hébergés individuellement, il est particulièrement important que les cages contiennent du matériel d'enrichissement en quantité suffisante (Clipperton-Allen et coll., 2015).

6.3 NOURRITURE, EAU ET LITIÈRE

6.3.1 Nourriture

Les souris consomment quotidiennement jusqu'à l'équivalent de 20 % de leur poids corporel. Toutefois, la quantité et la composition de l'alimentation devraient être adaptées à l'âge et aux besoins nutritionnels des animaux. Par exemple, les besoins des souris hébergées dans un environnement aseptisé ou celles soumises à des procédures ou des tests stressants peuvent être différents de ceux des souris reproductrices qui elles ont besoin d'un régime à haute teneur en gras (NRC, 1995). De l'information sur la prise alimentaire pour 28 souches différentes de souris est fournie dans Bachmanov et ses collègues (2002).

Il devrait y avoir une période de transition pour permettre aux souris de s'adapter à des changements importants dans leur alimentation; par exemple s'il faut offrir un nouvel aliment après une intervention chirurgicale, il faut permettre à l'animal d'y goûter au préalable. De plus, on devrait surveiller les souris pour s'assurer qu'elles se nourrissent.

Pour réduire au minimum la contamination, la nourriture ne devrait généralement pas être déposée sur la litière. Elle peut toutefois être déposée sur le fond de la cage dans plusieurs contextes, notamment pour les animaux ayant subi une intervention chirurgicale et ceux affaiblis, à mobilité réduite, ou tout juste sevrés, ou encore pour enrichir le milieu.

Une quantité suffisante de nourriture devrait être offerte dans les mangeoires pour que les souris aient en permanence de la nourriture propre. Avant de remplir les mangeoires, leur contenu devrait être examiné et toute nourriture détériorée devrait être jetée.

Tout aliment importé doit suivre le règlement sur les aliments du bétail de l'Agence canadienne d'inspection des aliments (ACIA, 1983). Des agents pathogènes (comme le parvovirus et le rotavirus) peuvent être introduits par la nourriture ou la litière (Clifford et Watson, 2008; Watson, 2013). Les aliments irradiés ou autoclavés devraient être utilisés dans les installations pour animaux exempts d'organismes pathogènes spécifiques, bien que des agents pathogènes puissent encore être introduits par ces aliments.

Lorsqu'un régime alimentaire particulier est nécessaire, des dispositions devraient être prises à l'avance pour l'approvisionnement et les critères de stockage et d'utilisation devraient être bien compris pour assurer la stabilité de tout additif alimentaire.

Les aliments non commerciaux devraient être préparés et conservés selon les procédures normalisées de fonctionnement de l'établissement. Si les aliments préparés contiennent un composé expérimental, il faut considérer les propriétés du composé (p. ex. la lipophilie) en rapport à la dose réelle administrée à l'animal (voir Hayes et Kruger, 2014, et le [Redbook 2000: IV.B.1. General Guidelines for Designing and Conducting Toxicity Studies](#) de la FDA, 2003).

6.3.2 Eau

Pour éviter l'introduction d'agents pathogènes, il peut être nécessaire de traiter l'eau destinée aux souris par des procédés comme l'acidification, l'osmose inverse, la chloration, l'autoclavage ou l'irradiation aux ultraviolets (UV). Les gestionnaires d'animaleries et les chercheurs devraient connaître les options disponibles d'alimentation en eau et choisir la méthode qui convient le mieux à l'animal et au contexte de l'étude.

Bachmanov et ses collègues (2002) mentionnent que la consommation quotidienne d'eau varie de 3,9 à 8,2 ml par souris selon la souche.

6.3.3 Matériaux pour la litière et les nids

Principe directeur 14

Des matériaux pour la litière et les nids doivent être fournis pour permettre aux souris de construire des nids et de réguler leur température corporelle, ainsi que de creuser à la recherche de nourriture.

Les matériaux pour la litière et les nids sont importants pour permettre aux souris de se créer un microenvironnement propice au repos et à la reproduction, et de démontrer des comportements naturels (Jennings et coll., 1998; Sherwin, 2002; Gaskill et coll., 2012). La litière permet aussi d'absorber l'urine et les fèces et de contrôler la concentration en ammoniac (Rosenbaum et coll., 2009; Freymann et coll., 2017), et les souris peuvent l'utiliser pour leur nid.

Comme de nombreuses souches de souris construisent des nids (Van de Weerd et coll., 1998b), la présence de matériaux de nidification est un impératif dans les cages (Gaskill et coll., 2013c). Les nids permettent aux souris de réguler leur température et de gérer leur exposition à la lumière et aux menaces perçues. La quantité requise (généralement entre 8 et 12 g par cage) devrait permettre (au moins dans une zone de la cage) de couvrir tous les animaux dans la cage (Gaskill et coll., 2012). Hess et ses collègues (2008) avancent que la qualité du nid est fortement influencée par le type de matériel fourni et présentent une façon d'évaluer la qualité des nids. Il est recommandé d'offrir aux souris deux matériaux différents (p. ex. des bandes de papier et des fibres) pour favoriser la construction de nids complexes et la reproduction (Gaskill et coll., 2013a). Des matériaux prédécoupés devraient être fournis aux souris incapables de déchiqueter le matériel pour se faire un nid (p. ex. les souris malades ou affaiblies, ou encore celles qui sont utilisées comme modèles de maladie) (Aubert et coll., 1997; Gaskill et Pritchett-Corning, 2016).

La litière et les matériaux de nidification doivent être non toxiques (sans danger si ingérés) et composés de particules adaptées aux besoins des souris. De plus, ces matériaux doivent être absorbants sans toutefois entraîner la déshydratation chez le nouveau-né, et pouvoir être manipulés par les souris facilement et pratiquement sans poussière (Baumans, 2010). Les souris préfèrent la présence de litière à une cage sans litière, et les matériaux contenant beaucoup de fibres qu'elles peuvent déchiqueter, comme le papier, aux copeaux ou à la sciure de bois (Blom et coll., 1996). La préférence pour certains matériaux peut relever davantage de la structure du matériau (c'est-à-dire la malléabilité pour la construction du nid) que de sa composition (Van de Weerd et coll., 1997). Le papier est le meilleur matériel pour la construction du nid de la souris (Hess et coll., 2008). On devrait toutefois éviter d'utiliser certains matériaux de papier comme litière, car ils peuvent rapidement être trempés d'urine.

Les matériaux devraient également être sélectionnés en fonction de la souche de souris et le but de l'étude. Pour les souris nues, comme elles n'ont pas de cils, les litières de papier avec de petites fibres peuvent être la cause d'une affection des paupières (gonflement, abcès) (White et coll., 2008) et celles de coton, d'une conjonctivite (Bazille et coll., 2001). En outre, certains types de litière de dérivés du bois ou la litière de maïs peuvent avoir un effet sur la physiologie des souris et les résultats de la recherche (White et coll., 2008; Ambery et coll., 2014; Leblanc et coll., 2014). Les matériaux dont la longueur des fibres est inappropriée peuvent entraîner une pododermatite gangréneuse chez les animaux qui ne sont pas encore sevrés (Barthold, 2016).

On devrait noter que des agents pathogènes (p. ex. le parvovirus ou le rotavirus) peuvent provenir de la litière (Lindstrom et coll., 2018).

Pour des conseils sur les changements de la litière et de matériaux de nidification, voir la section 6.7, « Changements de la litière et désinfection de la cage ».

6.4 ENRICHISSEMENT DE L'ENVIRONNEMENT

Les exigences de base pour répondre aux besoins physiques et comportementaux des souris sont décrites dans d'autres sections du présent document :

- la taille des cages devrait permettre aux souris de démontrer des comportements importants pour leur bien-être et de favoriser d'autres comportements qui améliorent leur qualité de vie (voir la section 2.1.1.1, « Taille de la cage »);
- les matériaux de nidifications et les abris font partie des caractéristiques d'un hébergement destiné aux souris, car ils offrent un confort aux animaux (voir la section 2.1.1.4, « Aménagements de la cage »);
- les souris devraient être hébergées en groupe (voir la section 6.2, « Gestion de l'hébergement »).

Les éléments suivants peuvent également enrichir le milieu des animaux, mais leur ajout doit être considéré dans un contexte individuel et en fonction des exigences de l'étude :

- des aménagements pour favoriser l'activité physique (p. ex. des structures pour grimper, des roues d'exercices);
- des matières pour permettre de creuser;
- des structures pour permettre aux animaux de se cacher ou d'éviter le contact avec des personnes ou d'autres animaux (p. ex. tubes, séparateurs);
- des objets à mâcher (p. ex. jouets comme des os en nylon) pour éviter la croissance excessive des dents et le rongage des barreaux de la cage;

- une variété d'aliments (comme des morceaux de légumes, des céréales, des gâteries pour souris), pourvu que cela ne risque pas de compromettre la biosécurité;
- certains aliments cachés dans la litière pour encourager la recherche de nourriture (Hutchinson et coll., 2005).

6.5 CONTACT HUMAIN ET MANIPULATION

Les souris sont des animaux nocturnes, les observations quotidiennes et les changements de cages devraient donc être effectués de manière calme et efficace pour éviter de déranger les souris, particulièrement si ces tâches ont lieu durant la période de repos des animaux (c'est-à-dire pendant la période d'éclairage du cycle diurne). Dans la mesure du possible, les souris des colonies d'élevage ne devraient pas être hébergées avec les souris expérimentales pour ne pas déranger la colonie lorsque ces dernières sont retirées de leur cage en prévision d'une procédure.

Pour de plus amples informations sur la manipulation ainsi que sur la contention, voir la section 7, « Manipulation et contention ».

6.6 OBSERVATION DES ANIMAUX

L'observation quotidienne des animaux devrait comprendre à la fois une évaluation de la santé et du comportement. Bien que la gamme complète des comportements est plus facilement observable pendant la phase d'obscurité, la souris est observée de jour et selon les procédures normalisées de fonctionnement de l'établissement.

La souris peut être plus difficile à observer qu'une autre espèce étant donné sa petite taille, le nombre total d'individus et la présence de matériaux de nidification. La disposition des cages sur des supports peut également influencer sur la facilité et l'efficacité de l'observation. Néanmoins, cette tâche devrait être effectuée avec la même rigueur que celle exigée pour toute espèce.

Certains éléments mentionnés à l'annexe 5, « Indicateurs de maladies », et à l'annexe 6, « Indicateurs pour l'évaluation du bien-être de la souris », sont utiles à l'observation quotidienne de la souris.

6.7 CHANGEMENTS DE LA LITIÈRE ET DÉSINFECTION DE LA CAGE

Principe directeur 15

La fréquence des changements de la litière devrait permettre de maintenir la qualité de l'air et de la litière dans les cages selon des paramètres acceptables, tout en tenant compte du stress associé à ces changements et de ses répercussions possibles sur les données expérimentales.

Des spécifications pour la litière et les matériaux de nidification sont fournies dans la section 6.3.3, « Matériaux de litière et de nidification ».

Les changements de litière, bien qu'ils peuvent avoir des effets perturbateurs, sont essentiels pour des soins appropriés et une gestion efficace des souris de laboratoire (Duke et coll., 2001; Sharp et coll., 2002;

Rosenbaum et coll., 2009). Il est nécessaire d'adopter une fréquence de changements qui permet aux souris de diviser leur compartiment en zones différentes pour l'alimentation, le repos et la miction. La fréquence dépend de plusieurs facteurs comme, entre autres, la taille de la cage, la composition et la taille du groupe, le type et la quantité de litière, et le nombre de changements d'air par heure (Reeb-Whittaker et coll., 2001). Idéalement, la surveillance de la qualité de l'air et l'inspection visuelle devraient être utilisées pour évaluer la nécessité de changer les cages. Dans les zones de vie et de repos, à l'écart de l'emplacement de défécation, la litière devrait être propre. Les procédures normalisées de fonctionnement concernant les changements de cage devraient tenir compte des facteurs énoncés ci-dessus (pour de plus amples renseignements sur la qualité de l'air en fonction des changements de cage, voir la section 3.1.3, « Qualité de l'air et ventilation »). Quelles que soient ces procédures, la litière devrait être changée si elle semble mouillée ou souillée pour ne pas nuire à la thermorégulation.

Une désinfection adéquate devrait éliminer les agents infectieux et prévenir leur propagation dans l'établissement (Compton et Macy, 2015). Le nettoyage devrait comprendre l'élimination des déchets animaux pour que la souris soit le moins possible en contact avec l'urine et les fèces, et pour réduire le plus possible la concentration d'ammoniac.

6.8 TENUE DE REGISTRES

Il est important que tous les registres mentionnés dans la section 12, « Tenue de registres », des *Lignes directrices du CCPA : les soins et la gestion des animaux en science* (CCPA, 2017) soient tenus par les établissements. Les registres d'élevage sont souvent établis pour des groupes de souris; un registre individuel est cependant nécessaire pour les animaux soumis à un traitement ou à une procédure ainsi que pour les animaux reproducteurs. Les exigences propres à ces registres sont décrites dans la section 5.1, « Surveillance et tenue de registres ».

7 MANIPULATION ET CONTENTION

Principe directeur 16

Les souris doivent être manipulées avec douceur de manière à éviter des blessures et de la détresse.

La manipulation peut avoir une incidence importante sur le bien-être des animaux et les résultats expérimentaux. La manipulation peut provoquer chez la souris un certain nombre de changements associés au stress. Il peut s'agir d'une augmentation de la fréquence cardiaque, de la température corporelle (Kramer et coll., 2004) et de la tension artérielle, d'hyperthermie, d'une altération du système immunitaire (Moynihan et coll., 1989) ou encore d'une augmentation du taux de corticostérone (Irwin et coll., 1986).

On doit s'assurer qu'une méthode appropriée est utilisée et effectuée par un personnel compétent. Dans la mesure du possible, les souris devraient être habituées aux manipulations.

7.1 MANIPULATION

Hurst et West (2010) comparent les techniques de manipulation conçues pour réduire le stress chez la souris et proposent une liste de ressources de formation en ligne. Pour réduire le stress lors de manipulations, la souris devrait être manipulée autrement que par la queue; par exemple, on peut utiliser un tube de manipulation placé dans la cage (Gouveia et Hurst, 2013; Hurst et West, 2010). La souris manipulée par la queue est moins motivée par les récompenses que celle manipulée par l'intermédiaire d'un tube, et cela a des conséquences à la fois sur le bien-être animal et sur les résultats de recherche (Clarkson et coll., 2018). Si la souris est habituée aux manipulations, il est possible de la prendre dans le creux de la main.

Le fait de prendre une souris par la queue peut induire des réactions d'anxiété et d'aversion, la bonne technique doit donc être utilisée pour la soutenir immédiatement. La souris ne doit pas être ramassée par le dernier tiers de la queue, car la peau peut se détacher (lésions de dégantage). De plus, si la souris est tenue par la queue, elle ne devrait pas être gardée longtemps dans cette position.

Le fait d'habituer les souris à être manipulées peut réduire les répercussions nuisibles de la manipulation (voir à ce sujet Kramer et coll., 2004). Les réactions de la souris devraient alors être surveillées pour l'atteinte d'un équilibre entre le dressage et la réduction des manipulations. Dans la mesure du possible, toutes les souris de la cohorte devraient être habituées aux procédures au moyen d'un programme qui devrait être appliqué de manière uniforme à tous les sujets de l'étude.

7.2 CONTENTION

On ne devrait pas utiliser la contention si des procédures moins stressantes permettent d'obtenir des résultats adéquats. La contention devrait être la plus brève possible, et effectuée au moyen d'appareils de taille convenable pour l'animal. Les souris devraient être sous surveillance pendant toute la procédure.

Il existe plusieurs types d'appareils mécaniques pour la contention. Ils sont conçus pour différents usages, comme les injections ou les prises de sang et le prélèvement de liquides organiques (canule pour usage à court terme). Autant que possible, la souris devrait avoir été habituée à l'appareil en question par des techniques de renforcement positif, et la durée de la contention devrait être la plus courte possible. Le recours à des procédures qui requièrent moins de contention (p. ex. les cathéters) est encouragé.

Un personnel qualifié pour réaliser la contention permet de réduire au minimum la durée de la procédure. Des données révèlent que les souris réagissent différemment aux hommes et aux femmes (Sorge et coll., 2014) et à l'individu qui réalise la manipulation. On devrait donc tenir compte de l'importance de la stabilité du personnel qui effectue les manipulations (Gaskill et Pritchett-Corning, 2016).

ÉVALUATION DU BIEN-ÊTRE ANIMAL

8

Principe directeur 17

Le bien-être de toutes les souris devrait être régulièrement évalué.

Pour les études chez la souris, cette évaluation devrait être adaptée à la souche animale et aux exigences du protocole.

L'évaluation du bien-être est un élément nécessaire dans toute étude réalisée avec des animaux, à la fois pour assurer une bonne qualité de vie aux animaux dans les limites de l'étude et pour la qualité des données scientifiques. Tous les membres du personnel qui travaillent avec les animaux jouent un rôle dans la collecte d'informations pour évaluer le bien-être animal, mais la responsabilité de la planification et de la documentation de cette évaluation revient au chercheur, en collaboration avec le vétérinaire, telle qu'approuvée par le comité de protection des animaux.

Dans la mesure du possible, les chercheurs devraient se référer aux procédures normalisées de fonctionnement approuvées par le comité de protection des animaux et les adapter en fonction de la souche. Ils devraient aussi formuler un plan pour évaluer et surveiller le bien-être de toute nouvelle lignée produite ou introduite dans les installations avant d'avoir été bien caractérisée, et ce, tout au long de la vie de l'animal (c.-à-d. pendant l'étude et l'élevage pour maintenir la colonie), sans oublier que les exigences en matière de surveillance peuvent changer avec le temps.

Un plan d'intégration des renseignements provenant de diverses sources devrait permettre de mesurer le bien-être individuel et collectif. L'évaluation du bien-être porte avant tout sur la détermination des mesures d'atténuation et des points limites requis, et ce, dans le but d'améliorer le bien-être animal. La surveillance devrait donc être effectuée pour le bien-être des animaux, et n'est pas une « fin en soi ».

Les chercheurs devraient s'assurer que les résultats des procédures d'évaluation du bien-être et l'identification (le cas échéant) de toute mesure d'atténuation pour répondre à une menace au bien-être sont bien documentés. Les évaluations et les préoccupations devraient être signalées au comité de protection des animaux. L'évaluation du bien-être des animaux peut se faire en parallèle avec la recherche sur les nouvelles souches issues du génie génétique ou récemment acquises, et toute information supplémentaire fournie par les résultats de cette évaluation devrait être communiquée aux personnes concernées et responsables des soins aux animaux.

Vu le grand nombre et la variété de souris génétiquement modifiées disponibles pour la recherche, certains établissements hébergent des souris démontrant un vaste éventail de phénotypes (p. ex. maladie ou susceptibilité à développer un problème clinique), d'où l'importance d'évaluer le bien-être animal.

Le plan d'évaluation du bien-être devrait être élaboré en fonction des caractéristiques de la souris à l'étude, en plus de tenir compte des sources de variation comme la souche ou le stock, le sexe, l'âge, l'état de santé et les expériences antérieures des animaux (voir la section 1.4, « Sources de variations »). La durée de vie

de l'animal devrait également être prise en compte pour déterminer le nombre, la fréquence et le caractère invasif des manipulations effectuées.

Les facteurs suivants interviennent dans la planification de l'évaluation du bien-être de la souris :

- petite taille des animaux, hébergement en groupes, grand nombre d'animaux hébergés;
- grande variété de souches et de modèles de maladie, diversité des comportements et des besoins des souris (voir la section 1.4 « Sources de variations »);
- susceptibilité au moindre changement du milieu du fait de leur petite taille (p. ex. une cage inondée, une baisse de la température);
- courte durée de vie, déroulement rapide des étapes de la vie.

Comme l'évaluation du bien-être fait partie intégrante des soins quotidiens aux animaux, différents aspects de cette évaluation sont examinés ailleurs dans le présent document :

- les observations quotidiennes des animaux et de leur environnement, comme l'observation visuelle des animaux, des cages, de la nourriture et de l'eau, et d'autres aspects de l'hébergement (voir la section 6, « Soins et gestion », du présent document, et les *Lignes directrices du CCPA : les soins et la gestion des animaux en science* (CCPA, 2017));
- la pertinence de l'environnement physique et social (voir les sections 2, « Animaleries », et 6.2, « Gestion de l'hébergement »);
- la surveillance de la santé des souris (voir la section 9, « Santé et prévention des maladies »);
- les exigences supplémentaires pour la surveillance des souris ayant subi une intervention chirurgicale ou une autre procédure (voir la section 10, « Procédures expérimentales », du présent document et la section 10.3, « Surveillance des soins en lien avec les activités de recherche, les interventions chirurgicales et l'anesthésie », des *Lignes directrices du CCPA : les soins et la gestion des animaux en science* (CCPA, 2017)).

L'évaluation du bien-être devrait réutiliser l'information recueillie lors des soins quotidiens aux animaux et des procédures effectuées et, au besoin, obtenir des renseignements additionnels auprès d'autres sources. Plus qu'une simple vérification de routine, cette évaluation détermine également la qualité de vie des animaux. Certains indicateurs du bien-être ne peuvent être observés que lorsqu'un état préjudiciable est déjà marqué (p. ex. mauvaise condition du pelage), tandis que d'autres se mesurent progressivement (p. ex. baisse du taux de croissance). Les indicateurs peuvent également souligner un aspect positif, comme la qualité de nidification (Rock et coll., 2014; Gaskill et coll., 2013c). Hawkins et ses collègues (2011) ont élaboré un guide pour définir et mettre en œuvre des procédures pour l'évaluation du bien-être des animaux de laboratoire.

Pour définir les critères d'évaluation du bien-être, il est essentiel que les chercheurs analysent la souche, le modèle de maladie et l'incidence des manipulations sur le bien-être des animaux. Comme point de départ pour une évaluation adaptée au contexte expérimental, la documentation actuelle devrait être examinée. Par exemple, Spangenberg et Keeling (2015) présentent des méthodes d'évaluation des souris dans les cages où elles sont hébergées entre les procédures, Leach et ses collègues (2008) examinent les résultats d'une consultation Delphi pour identifier des mesures valables et possibles du bien-être des souris, et les articles de Flecknell et ses collègues (2011) et de Urban et ses collègues (2011) sont consacrés à la recherche sur la douleur avec des modèles animaux et à l'importance de pouvoir évaluer la composante affective ou émotionnelle de la douleur en plus de sa composante sensorielle.

Un certain nombre d'outils d'évaluation ont été conçus, comme la notation de l'état corporel (Foltz et Ullman-Culleré, 1999), l'échelle d'expressivité ou *grimace scale* (Langford et coll., 2010), l'évaluation de la nidification (Rock et coll., 2014; Gaskill et coll., 2013c) et du comportement fouisseur (Jirkof et coll., 2013; Jirkof, 2014; Deacon, 2012). Il faut valider l'applicabilité de chaque outil (c.-à-d. s'assurer qu'il permet une évaluation fiable), et on devrait tester leurs limites (voir Miller et Leach, 2015). L'équipe de recherche, aidée des techniciens en soins aux animaux et du personnel de soins vétérinaires, est la plus à même d'effectuer la validation des outils d'évaluation. Ces derniers devraient être réévalués au fil du temps, car ils peuvent évoluer. La normalisation des termes utilisés pour décrire l'état des animaux permet d'avoir une idée claire du bien-être (voir Mouse Welfare Terms, 2017, et Fentener van Vlissingen et coll., 2015).

L'annexe 6 présente une liste d'indicateurs utiles pour l'évaluation du bien-être des souris.

SANTÉ ET PRÉVENTION DES MALADIES

Le maintien d'animaux en santé est important pour le bien-être de ces animaux et pour la qualité des données scientifiques. Les souris génétiquement modifiées et les souris dont le système immunitaire est affaibli peuvent avoir une susceptibilité accrue aux maladies transmises par d'autres animaux hébergés dans les mêmes installations, ce qui peut avoir une incidence sur la recherche (Franklin, 2006).

Principe directeur 18

Le programme de santé animale devrait être destiné à toutes les souris sans exception.

Des vétérinaires doivent participer à l'élaboration du programme de santé animale. Ce programme devrait être approuvé par le comité de protection des animaux, être supervisé par des personnes compétentes en la matière, et comprendre les éléments suivants :

- la prévention des troubles de santé au moyen de stratégies adaptées à l'état de santé des animaux et à la recherche;
- la surveillance de la santé et la détection de maladies latentes par l'évaluation de tous les animaux et celle de l'état de santé de chaque colonie;
- un plan d'urgence pour la gestion en cas d'éclosion soupçonnée d'une maladie.

9.1 PRÉVENTION DES MALADIES

Principe directeur 19

Des mesures stratégiques pour la prévention des maladies devraient inclure un programme de prévention des maladies et des mécanismes de suivi et de rapport périodiques d'évaluation de l'état de santé.

Les animaux devraient être exempts de germes pathogènes et de maladies cliniques. Un vétérinaire devrait jouer un rôle déterminant dans la mise en place des procédures normalisées de fonctionnement pour réduire le risque d'introduction de maladies dans les installations; et devrait fournir au besoin des conseils sur toute question relative à la santé des animaux (Mähler et coll., 2014).

Le plan de prévention et de lutte contre les maladies devrait comprendre les mesures suivantes :

- l'acquisition – le bon état de santé des souris devrait être confirmé par un bilan réalisé récemment par le fournisseur (commercial ou non), et les animaux devraient être examinés à la réception (voir la section 4, « Acquisition »);
- la quarantaine – les nouveaux animaux devraient être séparés des souris déjà hébergées dans les installations (voir la section 4.5, « Réception des souris »);

- la gestion des installations – les installations, l'équipement et les pratiques de gestion en place devraient permettre de prévenir : la transmission de microorganismes (voie aérienne, contact direct, vecteurs passifs), notamment dans les cages ventilées; la contamination de l'eau; l'entrée d'animaux nuisibles; et, les contaminants de sources externes;
- la gestion des soins – l'alimentation des souris devrait être de bonne qualité (denrées irradiées ou autoclavées) et des procédures devraient être mises en place pour bien nettoyer les cages, éviter la surpopulation et changer régulièrement la litière;
- la biosécurité – des procédures normalisées de fonctionnement devraient restreindre l'accès des installations, et décrire toutes les conditions de port de vêtements protecteurs et les méthodes de manipulation des animaux dans une enceinte de sécurité biologique;
- l'hébergement provisoire – des plans devraient être prévus pour héberger les animaux contaminés séparément des autres en cas d'éclosion de maladies dans les installations et pour établir une stratégie de lutte contre les maladies.

La biosécurité est une composante importante d'un programme préventif en matière de santé. L'assurance de la qualité (notamment les procédures de biosécurité) et la surveillance de la santé et de l'environnement sont essentielles pour maintenir les animaux dans un certain statut sanitaire (Shek et coll., 2015; Rehg et Toth, 1988). La présence d'agents infectieux peut avoir des répercussions sur les données expérimentales même sans provoquer une maladie. Un programme complet de surveillance de la santé en continu est essentiel, bien que cela ne soit pas suffisant en soi pour s'assurer que les animaux sont exempts d'agents pathogènes ou infectieux susceptibles d'affecter la recherche compte tenu du caractère rétrospectif d'un tel programme (Franklin, 2006).

9.2 SURVEILLANCE DE LA SANTÉ ET DÉTECTION DES MALADIES

Principe directeur 20

Des procédures normalisées de fonctionnement devraient être établies pour évaluer la santé de l'animal et pour fournir des soins et des traitements aux problèmes de santé courants chez les animaux et, afin d'en assurer la pertinence, elles devraient être examinées tous les trois ans.

Des procédures normalisées de fonctionnement devraient être élaborées pour les vérifications courantes de la santé et du bien-être de la colonie et de ses individus, en fonction de la souche et de l'état de santé des animaux, du type de recherche et des effets potentiels sur les autres animaux de l'établissement. Les exigences en matière de surveillance de la santé des animaux et de lutte contre les maladies dépendent également de la durée de l'hébergement des animaux et du type d'animalerie. Un programme de surveillance de la santé peut inclure la surveillance de l'environnement (tests effectués dans le plénum d'évacuation) et l'utilisation d'animaux sentinelles ou de la colonie, selon des facteurs comme la souche, le sexe ou l'âge des souris et le système de cages. Il faut déterminer les procédures d'évaluation nécessaires (p. ex. intervalles entre les essais, sélection des agents, vérifications) (Mähler et coll., 2014; Brielmeier et coll., 2006; Fox et coll., 2007). Il est essentiel que les échantillons et la technique de dépistage soient spécifiques au pathogène recherché et respectent, autant que possible, le principe de réduction.

Les programmes d'assurance de la qualité devraient évoluer en fonction de la prévalence des maladies dans la région. À cet effet, on devrait consulter la documentation sur les maladies chez les souris et les procédures pour leur dépistage. Dans certains cas, les essais moléculaires pour détecter les agents pathogènes peuvent remplacer les animaux sentinelles, notamment la réaction en chaîne de la polymérase (PCR) pour analyser l'environnement à partir de matériel provenant d'un conduit d'évacuation d'air (Henderson et coll., 2013; Jensen et coll., 2013). Ce type d'essais est fortement recommandé, car cela peut permettre de réduire grandement le nombre d'animaux hébergés dans l'animalerie.

Il existe de nombreux virus murins, et la présence de beaucoup d'entre eux a été constatée au sein de colonies d'élevage et d'animaleries. Bien que la plupart ne provoquent qu'une infection asymptomatique, ces virus peuvent accroître la vulnérabilité à d'autres infections microbiennes, modifier le phénotype des animaux expérimentaux ou causer une maladie clinique due à un stress, par exemple, lors d'une procédure ou d'un traitement. Les installations d'élevage ou de recherche, en particulier celles qui hébergent à long terme des colonies d'intérêt majeur, devraient envisager à titre préventif un dépistage régulier de ces virus (Henderson et coll., 2013). À titre d'exemple de virus murins, on peut citer les parvovirus et le virus de l'hépatite (Carty, 2008; Clifford et Watson, 2008). Toutefois, des virus moins courants peuvent également causer des problèmes de santé.

Les agents bactériens répandus dans les colonies de souris comprennent notamment *Helicobacter spp.* (Carty, 2008; Lofgren et coll., 2012), *Pasteurella pneumotropica* (Carty, 2008; Hayashimoto et coll., 2007) et *Staphylococcus aureus* (Pritchett-Corning et coll., 2009). D'autres agents bactériologiques moins courants peuvent également causer des problèmes de santé.

Les parasites, comme les acariens et les oxyures, sont généralement associés à des infections asymptomatiques chez la souris immunocompétente. Cependant, il s'agit d'un problème persistant chez les colonies de souris de laboratoire qui peut avoir une incidence à la fois sur la santé et sur les résultats de l'étude (Ricart et coll., 2010; Leblanc et coll., 2014; Pritchett, 2007). Karlsson et ses collègues (2014) ainsi que Ricart Arbona et ses collègues (2010) présentent une évaluation de test de détection des acariens.

Pour plus de renseignements sur les virus, les bactéries et les parasites ainsi que des besoins en matière de surveillance de ces agents potentiels, voir Mähler et ses collègues (2014).

Des procédures devraient être en place pour que les préoccupations liées à la santé des animaux ou à leur bien-être soient documentées et veiller à ce que cette information soit communiquée au vétérinaire en temps opportun.

9.3 GESTION DES SOINS EN CAS D'ÉCLOSION D'UNE MALADIE INFECTIEUSE

Principe directeur 21

Un programme de gestion des soins doit être mis en place pour intervenir en cas d'éclosion de maladies.

Un programme de gestion doit être élaboré pour composer avec les conséquences de l'éclosion de maladies graves de source interne ou externe, et pour prévenir la transmission d'agents pathogènes et la récurrence des infections. Ce programme devrait comprendre une stratégie de communication associant les vétérinaires,

le personnel de soins aux animaux et de soins vétérinaires, les chercheurs, les responsables des établissements et les comités de protection des animaux. Des installations de quarantaine ou d'autres moyens d'isoler les animaux doivent être prévus.

En cas d'éclosion de maladies infectieuses, le vétérinaire doit être consulté pour s'assurer que les techniques employées éliminent les agents pathogènes. Les procédures courantes dans ces cas peuvent comprendre la mise en quarantaine des animaux présents dans la salle où la maladie a été décelée et le dépistage de tout animal récemment hébergé dans cette salle (Mähler et coll., 2014). Par ailleurs, les mesures comme le traitement, le dépeuplement, la redériveration dépendent de la nature et de l'étendue de l'épidémie, de l'état de santé des animaux et du type d'étude (Mähler et coll., 2014). S'il est nécessaire d'euthanasier les animaux, des mesures adéquates de confinement doivent être en place concernant l'élimination des animaux et de la litière ainsi que la décontamination des cages et des salles afin d'éviter la propagation de la maladie (Mähler et coll., 2014).

Il peut être nécessaire de recourir à des procédures de caractères invasifs pour effectuer la décontamination par redériveration des lignées de souris contaminées, comme les procédures de collecte d'embryons ou de sperme et le transfert à une femelle non infectée ou encore la naissance après hystérectomie en conditions d'asepsie et l'adoption par une mère indemne. Ces mesures peuvent être nécessaires afin d'éviter de produire à nouveau des animaux génétiquement modifiés (ce qui augmenterait considérablement le nombre d'animaux). La redériveration peut être confiée à des experts pour tirer parti de leur savoir-faire. Le cas échéant, des procédures non invasives comme l'adoption peuvent être employées pour l'élimination de certains agents pathogènes au sein d'une colonie.

Le transfert d'embryon est plus efficace que la redériveration par césarienne pour la production de petits exempts d'organismes pathogènes. Des embryons exempts de virus infectieux transmissibles verticalement (de la mère infectée à sa progéniture) peuvent être produits et, bien effectuée, cette redériveration produit des souris receveuses et des souriceaux séronégatifs pour le virus (Mahabir et coll., 2009).

Lors d'une intervention pour le transfert d'embryons, toutes les exigences en matière de procédure chirurgicale, d'anesthésie et d'analgésie doivent être respectées (voir les sections 10.10, « Anesthésie et analgésie », et 10.11, « Intervention chirurgicale »). Dans la mesure du possible, on devrait remplacer le transfert d'embryons par voie chirurgicale par une méthode sans chirurgie (NSET) pour réduire la douleur et la détresse chez les souris (Green et coll., 2009).

PROCÉDURES EXPÉRIMENTALES

10

Principe directeur 22

La méthode la moins invasive et adaptée aux objectifs de l'étude doit être utilisée, et tenir compte des répercussions possibles des procédures, y compris chez les autres souris présentes dans la pièce, et des mesures à mettre en œuvre pour les réduire.

Le vétérinaire de l'établissement doit examiner tous les protocoles prévoyant des procédures expérimentales (voir ACMAL, 2007). Pour les procédures courantes, le personnel qui travaille avec des animaux devrait pouvoir consulter des procédures normalisées de fonctionnement approuvées par le comité de protection des animaux afin d'assurer la cohérence des procédures et des soins aux animaux. Quant aux nouvelles procédures, elles devraient faire l'objet de procédures normalisées de fonctionnement mises au point après consultation d'un expert et des parties intéressées (chercheurs et personnel en matière de sécurité et de soins aux animaux) avant qu'elles ne soient approuvées et instaurées. Ces procédures normalisées de fonctionnement devraient être mises à jour au fur et à mesure. Toutes les procédures devraient être documentées et les registres devraient être conservés sur place, à proximité des salles d'hébergement et de procédures, et mis à la disposition de l'équipe vétérinaire, du comité de protection des animaux et de l'unité de recherche.

Chaque établissement devrait avoir une politique ou une procédure normalisée de fonctionnement pour les procédures fréquentes. Ce document doit être élaboré en tenant compte de la fréquence de répétition, de l'intervalle entre chacune et du nombre total de procédures effectuées au cours de la vie de la souris. La procédure normalisée de fonctionnement doit également tenir compte du caractère invasif des procédures, de la douleur et de la détresse associées aux procédures et de leurs répercussions sur le bien-être murin, à court et à long terme (CCPA, 1998).

On devrait éviter les procédures qui ont des effets nocifs sur les animaux lorsque d'autres méthodes efficaces permettent d'atteindre l'objectif de l'étude.

Toute procédure peut causer de la douleur ou de la détresse chez l'animal. De plus, la réalisation de nombreuses procédures courantes est plus compliquée chez les souris en raison de leur petite taille. Ceci étant, seules des personnes compétentes et qualifiées sont autorisées à réaliser des procédures. Dans la mesure du possible, elles sont confiées aux vétérinaires ou au personnel de soins aux animaux expérimentés.

Les solutions de raffinements continuent d'évoluer dans ce domaine en raison des avancées techniques. Les chercheurs, les vétérinaires et les comités de protection des animaux devraient évaluer toute nouvelle solution et en envisager la mise en œuvre (Smith et Hawkins, 2016).

Principe directeur 23

Les points limites doivent être établis et approuvés par le comité de protection des animaux avant le début de l'étude pour réduire le plus possible les effets négatifs des procédures expérimentales chez l'animal.

Dans les *Lignes directrices du CCPA sur : choisir un point limite approprié pour les expériences faisant appel à l'utilisation des animaux en recherche, en enseignement et dans les tests* (CCPA, 1998), le terme « point limite » est défini comme suit : « moment auquel la souffrance et/ou la détresse d'un animal d'expérimentation est arrêtée, minimisée ou diminuée en prenant des mesures comme celles d'euthanasier de façon humanitaire l'animal, de mettre fin à une procédure qui le fait souffrir, ou en le traitant de manière à soulager sa souffrance et/ou sa détresse ».

Le chercheur, en collaboration avec le vétérinaire, doit établir un programme de surveillance adéquat ainsi que des points limites appropriés pour la recherche (p. ex. amorce d'un traitement, cessation d'une procédure, euthanasie). Pour établir les points limites les plus précoces, on devrait consulter les principaux documents pertinents à la recherche menée (voir Urban et coll., 2011; Trammell et coll., 2012; Trammell et Toth, 2011). Si un modèle murin est en cours d'élaboration ou utilisé pour la première fois par le chercheur, des études pilotes devraient être menées pour établir les points limites.

Une fréquence de surveillance appropriée doit être établie en fonction du caractère invasif du protocole et des signes cliniques ou des manifestations attendues ainsi que de l'évolution du modèle animal et de l'état de santé de chaque animal (selon ses antécédents). La surveillance devrait être documentée.

Le cas échéant et selon le caractère invasif du protocole, l'inclusion de plusieurs paramètres d'évaluation dans les feuilles de notation employées pour la surveillance est utile pour le suivi des points limites. Ce suivi devrait être le fruit des efforts conjoints du personnel de recherche, de soins vétérinaires et de soins aux animaux.

Lorsque la douleur ou la détresse ressentie par un animal ne peut pas être soulagée et n'est pas une composante du protocole de recherche approuvé par le comité de protection des animaux, l'animal doit être euthanasié dans les plus brefs délais.

10.1 MODÈLES ANIMAUX

Les chercheurs et les directeurs d'études devraient d'abord déterminer si des souris sont nécessaires pour l'étude et, dans l'affirmative, sélectionner la souche idéale comme modèle pour le processus biologique à l'étude. Le choix sera motivé par des questions de disponibilité, de besoins particuliers, d'éthique et de bien-être de la souche dans le cadre expérimental.

On ne doit pas obtenir des souches ayant des exigences particulières en l'absence de mesures pour bien soigner ces animaux. Il peut être nécessaire de revoir la conception de certaines études si ces exigences présentent des difficultés pour le maintien de la santé et du bien-être des animaux ou sont accrues en conséquence des interventions expérimentales. Les mesures requises pourront inclure, si nécessaire, de faire appel à un savoir-faire technique particulier ou supplémentaire et un personnel hautement qualifié.

10.2 ADMINISTRATION DE SUBSTANCES

L'administration de substances exige une planification minutieuse pour assurer leur efficacité et pour réduire au minimum les répercussions négatives sur le bien-être de la souris. En plus de tenir compte des exigences de la contention requise pour la procédure, la planification comprend le choix d'une voie d'administration appropriée, l'utilisation d'un équipement adéquat, la détermination du volume nécessaire, la fréquence d'administration et les propriétés de la substance (y compris le diluant ou le solvant), comme le pH, la viscosité, la stérilité et l'osmolalité (Turner et coll., 2011). Des procédures normalisées de fonctionnement devraient

être élaborées et approuvées par le comité de protection des animaux, après avoir consulté le vétérinaire de l'établissement. Si les effets secondaires ou l'innocuité de la substance administrée sont inconnus, des études pilotes devraient être menées.

Les sections suivantes décrivent des méthodes courantes pour l'administration de composés chimiques; quant aux autres méthodes, elles devraient être examinées et approuvées au préalable par le comité de protection des animaux.

10.2.1 Injection

Les solutions injectables doivent être stériles ou filtrées au moyen d'un filtre de 0,22 micron. Comme ces préparations sont susceptibles de contenir des agents infectieux qui peuvent affecter les animaux, les animaleries et les études, elles doivent être placées dans un récipient stérile.

Les procédures doivent être réalisées par des personnes compétentes, selon des techniques de manipulation et de contention appropriées. Le plus petit calibre d'aiguille nécessaire devrait être utilisé, et tenir compte du fait que la pointe des aiguilles fines s'é moussent facilement, entre autres, lors de l'utilisation de fioles multi-doses. On ne devrait pas réutiliser les aiguilles, et les substances à administrer devraient être non irritantes.

Chez la souris, la voie sous-cutanée, intrapéritonéale ou intraveineuse sont acceptables pour l'administration de substance (voir la page [Procedures with Care](#) sur le site de la Newcastle University, pour la description des procédures applicables à chaque voie d'administration). L'injection intramusculaire n'est pas recommandée en raison du risque de douleur et de pathologie que cela peut causer vu la faible masse musculaire des souris, comme la boiterie ou la nécrose de la peau et du muscle. Si cette voie est utilisée, le volume injecté doit être minime (0,05 ml par site d'injection sur les membres contralatéraux en alternance pour les doses multiples ou 0,1 ml pour une seule dose (Turner et coll. 2011a; Workman et coll., 2010)). L'injection intradermique n'est pas recommandée non plus parce qu'elle est techniquement difficile à réaliser. Dans ce cas également, le volume injecté doit être minime (Turner et coll., 2011a), en tenant compte de l'individu, du protocole et du site d'injection.

Le site de choix pour l'injection intraveineuse chez la souris éveillée est la veine caudale, bien que cela exige une formation pratique. La queue peut être réchauffée avec de l'eau chaude ou à l'aide d'une lampe chauffante pour mieux visualiser la veine. On devrait cependant procéder avec prudence afin de ne pas causer de blessures à la queue. Une loupe de tête permet bien visualiser la veine. Il existe des appareils de contention pour faciliter l'injection intraveineuse dans les veines caudales (p. ex. cylindre de diamètre approprié et muni d'un diviseur ajustable pour immobiliser le corps et d'une fente pour maintenir la queue).

Afin de détecter toute irritation périvasculaire (rougeur et enflure au site d'injection, veine blanchâtre), on devrait surveiller le site d'injection et consulter au besoin un vétérinaire.

Pour connaître les volumes maximaux et obtenir plus d'information sur les injections, on devrait consulter les articles de Turner et ses collègues (2011a) et Diehl et ses collègues (2001). Si les animaux sont soumis à des injections répétées (pendant plusieurs heures ou jours), le recours à des mini-pompes osmotiques ou à des cathéters intraveineux devrait être envisagé pour administrer les substances. Dans ce cas, les animaux qui reçoivent une perfusion continue de liquide devraient faire l'objet d'une surveillance des signes de surcharge liquidienne ou d'œdème pulmonaire (Turner et coll., 2011a). Le cathéter et son site d'insertion devraient être nettoyés régulièrement pour assurer un bon fonctionnement et prévenir les infections (Turner et coll., 2011b).

Turner et ses collègues (2011a) et Diehl et ses collègues (2001) présentent les volumes suggérés pour le bolus, l'injection lente (doses uniques ou répétées) et la perfusion, par site d'injection, et soulignent que les volumes tolérés par les animaux sont influencés par les propriétés physicochimiques de la substance administrée. Dans la mesure du possible, le plus petit volume devrait être administré.

10.2.2 Administration par voie orale

L'administration par voie orale comprend des méthodes comme l'ajout du médicament à la nourriture (comme un aliment composé d'un mélange médicamenteux), à l'eau (généralement non recommandé pour les souris, car elles peuvent éviter de boire) ou aux gâteries, et le gavage oral. Le choix de la méthode dépend en grande partie des spécificités de l'étude et de l'acceptation de la nourriture ou de l'eau traitée. Il convient de privilégier au gavage oral d'autres méthodes comme l'ajout de composés dans la nourriture ou de petites doses consommées volontairement par les animaux. Dans certains cas, le gavage oral peut être nécessaire compte tenu des exigences de dosage ou des propriétés du composé, comme son absorption, lorsque ces dernières peuvent être affectées par la nourriture. On devrait consulter un vétérinaire pour déterminer la méthode la plus appropriée pour l'étude. Des études pilotes sont encouragées pour le dosage dans les aliments ou pour l'utilisation d'autres préparations pour s'assurer que la dose réelle reçue par la souris est équivalente à celle des études qui utilisent le gavage pour administrer la substance.

Le gavage oral est une procédure qui peut être techniquement difficile. Il doit par conséquent être réalisé uniquement par des personnes qualifiées qui pratiquent régulièrement cette procédure chez la souris afin de réduire le plus possible le stress, les blessures et la mortalité (Arantes-Rodrigues et coll., 2012). Avant la procédure, l'animal devrait être habitué à la contention.

Les souris doivent être correctement et fermement immobilisées pendant le gavage oral. Il s'agit de maintenir l'animal, en le prenant par la peau de chaque côté de la base du cou, et d'exercer une légère pression des doigts pour que la position de la tête permette l'alignement de la cavité buccale et du pharynx avec l'œsophage. Cette position crée un passage presque en ligne droite de la bouche à l'estomac.

Pour l'administration par gavage, il est préférable d'utiliser une aiguille d'alimentation (à bout rond) d'une longueur appropriée (le tube d'alimentation mesuré au préalable devrait couvrir la distance du nez à la dernière côte (Morton et coll., 2001)), et de l'insérer au-dessus de la langue pour faire descendre l'instrument dans l'œsophage et l'estomac. La longueur des aiguilles de gavage devrait être appropriée à la taille de l'animal. Les aiguilles pour gavage en acier inoxydable ou en plastique ont chacune leurs avantages et leurs inconvénients. Mal utilisé, les premières peuvent causer davantage de dommages aux tissus internes et aux organes que les petites aiguilles jetables en plastique qui elles sont flexibles. Quant aux aiguilles en plastique de grands calibres (également flexibles), la souris peut la mordre et en avaler des morceaux; auquel cas la procédure est à répéter, un nouveau stress pour l'animal. En outre, on devrait tenir compte de la taille de l'estomac de la souris, car même la plus petite aiguille flexible en plastique peut être encore trop grosse.

Pour la tolérance de l'administration par voie orale dans le cas de doses répétées ou de gavage, les aiguilles peuvent être trempées dans une solution appétissante pour la souris, par exemple un liquide sucré. L'application de cette solution sur l'aiguille stimule également le réflexe de déglutition, ce qui facilite le gavage (Hoggatt et coll., 2010). Dans le contexte des résultats de l'expérimentation, on devrait cependant tenir compte des effets possibles de la solution de trempage sur la physiologie de la souris.

Les substances à administrer doivent être en suspension ou en solution, à température ambiante ou corporelle. Le plus petit volume possible devrait être administré, soit idéalement 5 ml/kg (Turner et coll., 2011a).

Cependant, on devrait tenir compte des caractéristiques de l'animal concerné (p. ex. taille réduite de l'estomac chez la femelle gestante). Un volume plus important peut entraîner un reflux passif si l'estomac est trop plein ou une pneumonie par aspiration (Turner et coll., 2011a).

La procédure de gavage peut nécessiter une attention particulière lorsqu'elle est effectuée dans des conditions de barrières qui exigent souvent l'utilisation d'enceinte de sécurité biologique pour toute manipulation. Le personnel qui travaille dans ces espaces devrait adapter les techniques pour optimiser l'ergonomie tout en réduisant au minimum les blessures et le stress chez les souris.

10.3 PRÉLÈVEMENTS DE LIQUIDES CORPORELS OU DE TISSUS

Des procédures normalisées de fonctionnement pour le prélèvement de liquides corporels ou de tissus devraient être élaborées et approuvées au préalable par le comité de protection des animaux. Le vétérinaire de l'établissement devrait être consulté à propos des protocoles expérimentaux.

10.3.1 Sang

10.3.1.1 Prélèvement sanguin avec survie

L'exécution de procédures de prélèvements sanguins ou tissulaires repose sur un personnel qualifié, car la souris est un petit animal et que sa manipulation ou la procédure en soi peut stresser l'animal. La méthode la moins invasive qui permet d'obtenir le volume requis devrait être utilisée, tout en tenant compte de l'importance de la manipulation de l'animal et d'autres problèmes qui peuvent survenir.

Dans un seul échantillon, on peut généralement prélever jusqu'à 6 ml/kg de sang (c.-à-d. 10 % du volume sanguin) chez une souris en bonne santé. Une période de récupération de 3 à 4 semaines devrait être prévue avant le prochain prélèvement (Morton et coll., 1993). Le volume sanguin d'une souris saine peut varier, mais en général celui-ci est de 1,5 ml pour une souris de 25 g. Le pourcentage du volume total de sang d'une souris obèse qui peut être prélevé dans un seul échantillon devrait être d'environ 7 % du volume sanguin circulant estimé, car le ratio volume sanguin circulant et poids corporel est inférieur à celui des autres souris (Morton et coll., 1993). Il est important de permettre aux tissus du site de la ponction de guérir avant chaque prélèvement.

Le prélèvement sanguin (à l'exception du prélèvement sanguin suivi d'une euthanasie) ne devrait pas être effectué chez la souris âgée de 14 jours ou moins pour éviter un choc hypovolémique (Robinson et coll., 2003).

Après un prélèvement, on doit s'assurer que l'animal ne saigne plus avant de le remettre dans sa cage. Au besoin, on devrait procéder à la réhydratation de l'animal.

Le National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research (NC3Rs) présente un arbre décisionnel utile pour déterminer la technique la plus appropriée à la taille de l'échantillon requis (voir [Mouse : Decision tree for blood sampling](#)). Des informations sur les techniques appropriées sont également disponibles sur le site du centre (voir [Blood Sampling : Mouse](#)), et l'article de Parasuraman et ses collègues (2010).

L'effet du site du prélèvement sur les résultats de l'étude doit également être pris en considération (Diehl et coll., 2001; Hoggatt et coll., 2016). Par exemple, on a démontré que les concentrations de globules blancs varient selon que le site de prélèvement est le cœur ou les parties distales comme la veine caudale (Nemzek

et coll., 2001), la veine faciale (Mella et coll., 2014) ou la veine cave inférieure (Schnell et coll., 2002). De plus, le stress associé à la manipulation peut avoir des répercussions sur les paramètres sanguins (p. ex. taux de glucose ou de corticostéroïdes), une raison supplémentaire pour habituer les souris aux manipulations. Ceci montre bien l'importance d'utiliser la même méthode pendant toute l'étude, et de citer la méthode utilisée dans les publications ultérieures (Hoggatt et coll., 2016).

Les sites de ponction acceptables pour le prélèvement sanguin chez la souris comprennent la veine caudale latérale, la veine faciale et les veines saphènes médiane et latérale. Comme mentionné à la section 10.2.1, « Injection », s'il est nécessaire d'appliquer de la chaleur pour mieux visualiser la veine, on devrait le faire avec prudence.

Bien que le prélèvement sanguin par la veine faciale soit techniquement relativement facile, l'accessibilité fait peser un risque important de prélever involontairement trop de sang. De plus, le prélèvement sur ce site cause un stress chez les souris et peut entraîner une détérioration des tissus (Teilmann et coll., 2014). Par conséquent, sa réalisation exige un personnel hautement qualifié. Francisco et ses collègues (2015) ont comparé l'aiguille et la lancette pour effectuer le prélèvement sanguin par la veine faciale et n'ont pas constaté de différence significative entre ces deux gestes pour ce qui est du bien-être de l'animal ou de la qualité de l'échantillon prélevé. La technique doit néanmoins être effectuée par un personnel hautement qualifié, et l'utilisation d'un anesthésique est recommandée lorsqu'elle est effectuée à des fins de formation.

10.3.1.2 Prélèvement sanguin suivi d'une euthanasie

La ponction cardiaque est seulement acceptable pour des procédures terminales chez la souris euthanasiée ou profondément anesthésiée avant l'euthanasie. Le prélèvement à l'aorte abdominale est également acceptable si l'animal est sous anesthésie profonde. Si l'euthanasie par décapitation a été approuvée par un comité de protection des animaux, le sang peut être prélevé à la hauteur du cou (voir la [page Web du NC3Rs sur la souris](#)).

Le prélèvement sanguin au sinus rétro-orbital a été associé à des conséquences négatives sur le bien-être animal et ne devrait donc être effectué que comme procédure terminale. L'échantillon obtenu de cette manière n'est pas représentatif du sang veineux, car il s'agit d'un mélange de sang veineux et de liquide tissulaire (voir la [page Web du NC3Rs sur le prélèvement sanguin au sinus rétro-orbital chez la souris](#)).

10.3.2 Urine et fèces

La méthode la moins invasive pour le prélèvement d'urine ou de fèces devrait être utilisée, dans la mesure où elle se conforme aux exigences de l'étude. Kurien et ses collègues (2004) ont examiné diverses méthodes de prélèvement d'urine, de l'expulsion volontaire à l'utilisation de cages métaboliques et de moyens chirurgicaux. Il est important de respecter les exigences de l'étude pour obtenir au moment approprié des échantillons exempts de contamination et de volume suffisant, et de réduire au minimum la douleur et la détresse chez l'animal, tant pour le bien-être des animaux que pour la qualité des échantillons obtenus. Les méthodes de prélèvements d'urine réalisées par écoulement libre sur une pellicule de plastique sont décrites par Kurien et Scofield (1999). Il est également possible de faire des prélèvements sur une litière de sable non absorbant. Pour des conseils sur le recours aux cages métaboliques, voir la section 2.1.2, « Cages métaboliques ».

Pour assurer la cohérence, on devrait utiliser des échantillons de fèces prélevés récemment plutôt que des boulettes fécales provenant de la litière de la cage qui présentent une variabilité de la viabilité des agents pathogènes et d'autres substances biologiques analysés dans les échantillons.

10.4 EXPLANTS ET IMPLANTS

Pour être efficaces, les explants et les implants exigent une surveillance et des soins appropriés. Parmi les dispositifs couramment utilisés pour l'injection de substances chez la souris, il y a entre autres les cathéters superficiels ou implantés chirurgicalement et les pompes à perfusion (Turner et coll., 2011b). En outre, l'implantation de dispositifs de télémétrie et d'autres dispositifs d'enregistrement est fréquente.

Les dispositifs implantés chirurgicalement posent un risque d'infection postopératoire, bien souvent parce que leur stérilisation et leur manipulation sont difficiles. Ces dispositifs sont des foyers de biofilms bactériens, et les cathéters externes permettent aux microorganismes à la surface de la peau de s'infiltrer dans les tissus internes. Pour réduire au minimum ces risques, tous les dispositifs devraient être stérilisés à l'aide de techniques courantes, comme l'autoclavage, l'irradiation et la stérilisation (par gaz ou produits chimiques). Si cela n'est pas possible, le vétérinaire de l'établissement devrait être consulté pour obtenir d'autres options. La technique aseptique devrait être utilisée à la fois pendant l'insertion de tout dispositif par voie chirurgicale et pendant la manipulation du dispositif.

La taille ou le poids d'un dispositif et le site d'attachement ou d'insertion devraient être choisis pour réduire au minimum les effets sur la capacité de la souris à effectuer des activités normales. Pour la télémétrie, la masse du dispositif est souvent calculée en fonction de celle de l'animal; un calcul qui vaut pour certaines espèces, mais dont le résultat peut être disproportionné pour des animaux de petite taille comme les souris (Morton et coll., 2003). Dans tous les cas, les détails concernant tout dispositif devraient être consignés. Si le dispositif est susceptible d'affecter la capacité de l'animal à atteindre la nourriture ou l'eau, des mesures devraient être prises pour remédier à cette situation.

Lorsque les dispositifs sont exposés et peuvent être endommagés, la surveillance doit être suffisante pour garantir un risque minimal pour l'animal. Les dispositifs doivent être conçus et attachés ou insérés de manière à réduire le risque de délogement, et les cages devraient être conçues pour réduire le risque que le dispositif se retrouve coincé. Les souris devraient être hébergées individuellement si l'hébergement en groupe menace leur bien-être.

Dans la mesure du possible, l'enrichissement de l'environnement devrait continuer à être fourni aux animaux équipés de dispositifs pour leur permettre de démontrer des comportements naturels (Lidster et coll., 2016).

10.5 PROCÉDURES CHEZ LA SOURIS GÉNÉTIQUEMENT MODIFIÉE

La sélection de la méthode pour produire de nouvelles lignées génétiquement modifiées devrait tenir compte des Trois R (comme réduire le nombre d'animaux requis pour la création et le maintien de chaque lignée et tenir compte de l'ensemble des effets sur le bien-être animal), et être choisie en fonction de son efficacité. Les procédures pour la production d'animaux génétiquement modifiés devraient être examinées par le comité de protection des animaux lors de l'examen des protocoles, en tenant compte des changements rapides dans le domaine de la modification génétique et des progrès dans la recherche sur le bien-être animal. Les demandes de renouvellement de protocoles soumises au comité de protection des animaux devraient inclure un rapport du chercheur sur l'efficacité des méthodes utilisées pour produire de nouvelles souches.

Les technologies d'archivage contribuent à la réduction et au raffinement. On devrait donc faire appel à un expert dans ce domaine pour la production de nouvelles lignées.

Un programme de surveillance génétique peut constituer un outil important pour maintenir la qualité génétique des souris destinées à un programme de recherche (Fahey et coll., 2013).

10.5.1 Prélèvement d'échantillons pour le génotypage

Le prélèvement d'échantillons devrait se faire selon la méthode la moins invasive pour obtenir la quantité et la qualité des tissus requis pour le génotypage. Idéalement, cette méthode permet également l'identification des animaux, ce qui réduit les manipulations et le nombre de procédures effectuées sur chaque animal (voir la section 6.1, « Identification des animaux »), mais ce n'est pas toujours possible (Bonaparte et coll., 2013).

Il existe des méthodes peu invasives pour le génotypage, mais elles peuvent ne pas être adéquates dans le cadre de certaines études compte tenu des risques importants de contamination croisée (Cinelli et coll., 2007; Robinson et coll., 2003) :

- les échantillons de fèces (Cinelli et coll., 2007);
- les échantillons de salive et de cellules buccales (Robinson et coll., 2003);
- les échantillons de poils (Robinson et coll., 2003; Otaño-Rivera et coll., 2017).

Dans le cas où ces méthodes ne conviennent pas à l'étude, on devrait alors procéder par biopsie auriculaire ou par prélèvement sanguin. La biopsie auriculaire ou le poinçonnage de l'oreille consiste à prélever un petit échantillon de tissu (environ 2 mm de diamètre) sur la périphérie du pavillon de l'oreille, là où le tissu est le plus mince, à l'aide d'un poinçon (Morton et coll., 2003). La biopsie auriculaire cause moins d'inconfort pour les animaux que la biopsie caudale (Norecopa, 2008) et peu de saignement (Bonaparte et coll., 2013). Cependant, elle n'est pas toujours appropriée pour le génotypage quantitatif et ne peut pas être effectuée sur des animaux âgés de moins de 14 jours (Norecopa, 2008).

La biopsie caudale pour l'analyse de l'ADN consiste à prélever un échantillon de tissu de la queue (moins de 5 mm) sur la partie distale (Hankenson et coll., 2008). Lorsque la biopsie caudale est jugée nécessaire, on doit envisager l'usage d'anesthésiques et d'analgésiques en se basant sur l'évaluation de la douleur associée à la procédure, les effets du réveil et les effets potentiels à long terme (Jones et coll., 2012). L'utilisation d'agents anesthésiques pour la biopsie caudale peut être moins avantageuse pour les jeunes souris que chez les adultes, et l'anesthésie (incluant la période de réveil) peut accroître l'anxiété et réduire l'activité physique chez la souris de tout âge (Hankensen et coll., 2011).

La phalangectomie est déconseillée. Elle est autorisée seulement sur l'approbation du comité de protection des animaux dans les situations particulières suivantes :

- aucune autre méthode ne peut être utilisée;
- la souris est très jeune (âgée de moins de 7 jours);
- un seul orteil est coupé (Bonaparte et coll., 2013; Schaefer et coll., 2010; Wever et coll., 2017).

Pour obtenir de plus amples renseignements sur l'application des techniques de génotypage, ainsi que les préoccupations liées au bien-être animal et à l'étude, voir l'annexe 4, « Pratiques recommandées pour le génotypage ».

10.5.2 Superovulation des femelles

Les techniques de superovulation augmentent la production d'ovocytes chez les souris femelles, ce qui réduit le nombre de femelles nécessaires pour obtenir le nombre de descendants requis (Nagy et coll., 2003; Robinson et coll., 2003). Pour obtenir de meilleurs résultats, on devrait tenir compte de la souche et du poids de la souris, ainsi que de la dose, de l'intervalle de temps et du type d'hormone injectée (Luo et coll., 2011; Takeo et Nakagata, 2015). Par ailleurs, la réponse à ces traitements est généralement meilleure chez les jeunes femelles (Hoogenkamp et Lewing, 1982; Luo et coll., 2011).

10.5.3 Stérilisation des mâles

Les méthodes d'anesthésie et d'analgésie, les soins postopératoires et l'évaluation de la douleur devraient être planifiés de manière à réduire l'inconfort et la douleur lors de la stérilisation des mâles (Leach et coll., 2012; Miller et coll., 2012). Une période de rétablissement de 2 semaines devrait être prévue avant d'accoupler l'animal stérilisé.

10.5.4 Redériver par transfert d'embryon

Comme mentionné dans la section 9.3, « Gestion des soins en cas d'éclosion d'une maladie infectieuse », des méthodes autres que le transfert d'embryons devraient être utilisées pour réduire la douleur et la détresse ressenties par l'animal; par exemple, la technique non chirurgicale du transfert d'embryons (Green et coll., 2009). Les méthodes d'anesthésie et d'analgésie, les soins postopératoires et l'évaluation de la douleur devraient être planifiés de manière à réduire l'inconfort et la douleur lors d'un transfert d'embryon par méthode chirurgicale.

10.5.5 Phénotypage

Certaines procédures sont acceptables pour les animaux dont la génétique n'a pas été modifiée, mais ne le sont pas pour les souris génétiquement modifiées qui présentent un phénotype modifié. Pour les animaux ayant une faible capacité d'adaptation au stress, il convient éventuellement de modifier la procédure, voire de l'éviter; cette remarque s'applique notamment au choix de la méthode de phénotypage.

Une fois le phénotype déterminé, toute information supplémentaire relative au bien-être des animaux devrait être transmise au comité de protection des animaux le plus tôt possible. La transmission d'une lignée germinale stable ne garantit pas la stabilité du phénotype ou du bien-être; une modulation du phénotype peut se produire (p. ex. intervention de facteurs comme les effets liés à l'âge, au patrimoine génétique, à l'homozygotie, aux croisements avec d'autres lignées mutantes). Une surveillance adéquate s'impose tout au long de la vie de l'animal ou si le fond génétique est modifié.

Les chercheurs devraient prendre des mesures appropriées pour transmettre à leurs pairs toute l'information disponible sur le phénotype et le bien-être, ainsi que sur les stratégies pour atténuer les problèmes liés aux différentes lignées de souris génétiquement modifiées (Brown et Murray, 2006).

Les souris génétiquement modifiées peuvent réagir différemment aux médicaments et aux aliments, de même qu'à un certain nombre de conditions expérimentales, par rapport aux souris dont la génétique n'a pas été modifiée. Des différences de métabolisme peuvent être à l'origine de ces disparités qui sont particulièrement pertinentes dans le cadre de l'utilisation d'anesthésiques, d'essais de nouveaux médicaments ou d'études de toxicité.

10.6 PRODUCTION D'ANTICORPS

Pour les procédures liées à la production d'anticorps, voir les [Lignes directrices du CCPA sur : la production d'anticorps](#) (CCPA, 2002).

10.7 IMAGERIE

Pour l'imagerie, il est essentiel d'élaborer un plan en collaboration avec le vétérinaire. Bien que les études ayant recours à l'imagerie peuvent réduire le nombre d'animaux requis, les méthodes d'imagerie imposent des manipulations qui sont autant de stressseurs pour l'animal. Voici d'autres facteurs à considérer : multiples injections, anesthésie, manipulations et transport, conditions expérimentales (p. ex. fardeau tumoral ou intervention chirurgicale), hypothermie, jeûne (Hildebrandt et coll., 2008). La teneur du plan devrait tenir compte du bien-être animal et de la validité des résultats d'imagerie. En raison des répercussions importantes de chaque anesthésie sur la physiologie de l'animal, on devrait tenir compte du nombre d'images et de la fréquence du procédé. Voir la section 10.11, « Anesthésie et analgésie », pour des recommandations particulières concernant l'utilisation d'anesthésiques. Entre chaque examen d'imagerie, il est très important de surveiller les animaux.

De plus, le programme d'imagerie devrait être élaboré par rapport aux résultats attendus d'une intervention ou en fonction de l'âge auquel un changement se produit.

Un certain nombre de méthodes d'imagerie peuvent être utilisées pour observer le vivant (voir Zhi et coll., 2014; Yuan et coll., 2010; Villiger et coll., 2009; Leitgeb, 2007; Antony, 2014), comme la microscopie intravital effectuée in situ sur l'animal vivant. Le choix doit porter sur la méthode la moins invasive qui convient aux objectifs de l'étude.

Les équipements devraient être nettoyés et désinfectés à fond après chaque utilisation pour éviter la contamination croisée, notamment si les équipements sont partagés.

10.8 ÉTUDES COMPORTEMENTALES

La santé et le bien-être de l'animal sont essentiels pour obtenir des résultats valables et interprétables de tout programme d'études comportementales.

La stimulation négative, la privation ou la restriction des ressources devraient être utilisées s'il n'y a pas d'autre option. Si possible, on devrait utiliser des gâteries pour motiver un animal; c'est-à-dire une récompense sous forme de nourriture plutôt qu'une punition. Le recours à des méthodes comme les chocs, les stimuli d'aversion (p. ex. bouffées d'air), les restrictions alimentaire et hydrique et les tests de nage forcée dans le cadre d'une étude de motivation devrait être justifié auprès du comité de protection des animaux, et ces méthodes devraient être utilisées le moins longtemps possible et de la manière qui porte le moins atteinte à l'animal.

Pour des exemples d'études comportementales, voir le chapitre 9 (Behavioral Studies) de [Guidelines for the Care and Use of Mammals in Neuroscience and Behavioral Research](#) (NRC, 2003).

Les équipements devraient être nettoyés et désinfectés à fond après chaque utilisation pour éviter la contamination croisée, notamment si les équipements sont partagés.

10.9 CONTRÔLE DE LA CONSOMMATION D'ALIMENTS ET DE LIQUIDES

Lorsque l'on veut contrôler la consommation d'aliments et de liquides, il faut collaborer avec le vétérinaire pour déterminer le degré de contrôle et les effets néfastes possibles de la technique choisie ainsi que les méthodes d'évaluation de la santé et du bien-être des animaux (NRC, 2003). La procédure doit être scientifiquement justifiée au comité de protection des animaux, et des points limites (c'est-à-dire les indicateurs choisis pour l'arrêt ou la modification d'une procédure) pour maintenir la santé et le bien-être des animaux doivent être définis et approuvés par le comité de protection des animaux (NRC, 2003; CCPA, 1998).

La restriction alimentaire et hydrique la moins stricte requise pour atteindre l'objectif de l'étude devrait être employée. Dans la mesure du possible, des études pilotes devraient être effectuées pour déterminer si des restrictions alimentaire ou hydrique sont essentielles.

Si une période de jeûne est nécessaire, elle devrait être la plus courte possible, de préférence pendant la photophase (phase diurne), pour s'adapter au comportement de l'espèce. Chez la souris, la quantité d'aliments et d'eau ingérés varie grandement chaque jour, car la consommation dépend fortement du rythme circadien. L'effet de la privation de nourriture est plus marqué lorsque la privation a lieu pendant la phase active des souris, car elles consomment généralement les deux tiers de leur apport alimentaire quotidien la nuit. Chez les rongeurs, une diminution notable du poids du foie et une augmentation du contenu hépatique en glycogène, glycérol, acides gras libres et acétoacétate ont été mesurées après 3 heures de jeûne (Palou et coll., 1981). Les effets du jeûne, par exemple sur la régulation de la glycémie et la production de l'insuline, ne sont pas les mêmes chez les rongeurs que chez les humains (Jensen et coll., 2013b).

La consommation d'aliments et de liquides est fortement influencée par des caractéristiques comme la souche murine (notamment les modifications génétiques), le sexe, l'âge, la densité de l'hébergement, l'état reproductif et la température ambiante. Les restrictions alimentaire et hydrique peuvent entraîner des changements physiologiques et biochimiques importants chez l'animal, et ces changements s'aggravent avec la durée de la privation (Classen, 1994; Jensen et coll., 2013). On devrait faire un suivi du poids des souris, et ce registre devrait pouvoir être consulté par le personnel de soins vétérinaires.

10.10 ANESTHÉSIE ET ANALGÉSIE

10.10.1 Anesthésie

L'anesthésie devrait être utilisée comme outil pour les procédures qui peuvent être stressantes ou douloureuses. Les décisions concernant le recours ou non à l'anesthésie devraient être prises en consultation avec le vétérinaire, et approuvées par le comité de protection des animaux.

Les anesthésiques peuvent avoir des effets marqués sur la physiologie des animaux, ce qui entraîne des repercussions à la fois sur le bien-être animal et les résultats expérimentaux (Flecknell, 2009). L'anesthésie devrait être considérée comme une procédure importante dont la planification minutieuse du schéma anesthésique (sans oublier la prise en charge des complications) est un élément déterminant de tout bon plan d'expérimentation (Flecknell, 2009). La planification comprend la sélection des médicaments et de la posologie adaptés à l'anatomie et à la physiologie spécifiques du sujet, la surveillance étroite et les soins appropriés aux souris pendant et après la procédure (Gargiulo et coll., 2012).

Une formation spécialisée en administration d'anesthésiques est un facteur décisif de succès. L'anesthésie doit être pratiquée uniquement par des personnes qualifiées (CCPA, 2015).

La gestion de l'anesthésie doit tenir compte du phénotype et de l'état de santé. Dans le cadre de la planification de l'anesthésie, on devrait également tenir compte des répercussions possibles que peuvent avoir la modification génétique, les procédures expérimentales et le modèle animal sur le phénotype. On devrait également tenir compte du rythme circadien de la souris, car des données révèlent que l'anesthésie peut affecter le rythme biologique de l'animal et entraîne des troubles cognitifs durables chez les souris âgées (Song et coll., 2018). Des précautions doivent être prises pour une anesthésie sécuritaire, et la procédure devrait être effectuée chez des animaux en bonne santé. Les restrictions alimentaire et hydrique ne sont pas nécessaires avant l'anesthésie, car les souris sont incapables de vomir. La détermination de la dose appropriée doit tenir compte de la souche, du poids corporel, de l'âge, du sexe et de toute modification génétique (Gargiulo et coll., 2012). Le poids de l'animal devrait être noté pour déterminer la dose et préparer la dilution. En raison des différences possibles dans le métabolisme d'un anesthésique, une étude pilote peut être utile pour déterminer la dose efficace appropriée pour une nouvelle souche. Les signes vitaux et les réflexes des animaux sous anesthésie devraient faire l'objet d'une surveillance périodique chez les souris (Jaber et coll., 2014), car il est facile de leur administrer une surdose d'agent anesthésique. Pour de plus amples informations, voir la section 10.12.1, « Surveillance ».

Le type d'agent anesthésique et sa concentration doivent être soigneusement étudiés, car la réaction d'aversion est habituellement plus intense ou plus fréquente à des concentrations élevées (Leach et coll., 2002). De plus, le réflexe d'évitement de la souris lors de toute nouvelle exposition à un anesthésique comme l'isoflurane (Wong et coll., 2012; Moody et Weary, 2014) semble indiquer que l'anesthésie n'est pas une procédure sans effet nuisible à l'animal et à son bien-être. On doit tenir compte de cette information, en particulier pour les études longitudinales.

L'anesthésie balancée est une approche qui associe de petites doses de divers agents anesthésiques pour atteindre l'ensemble des effets recherchés : sédation, analgésie, relaxation musculaire et prévention des réflexes autonomes (Tranquilli et coll., 2007). Cette méthode peut éliminer les effets indésirables provoqués par un seul médicament à forte dose (Ilkiw, 1999).

L'anesthésie par inhalation, à l'aide d'une chambre anesthésique pour l'induction et d'un circuit anesthésique approprié au maintien de l'anesthésie à partir d'un vaporisateur de précision, permet une induction et un réveil rapide et l'ajustement précis et rapide de la profondeur de l'anesthésie pendant la procédure (Flecknell, 2009). On devrait s'assurer que les vaporisateurs sont calibrés pour administrer la bonne concentration d'anesthésique. Les procédures comme l'injection intraveineuse peuvent être accomplies plus efficacement et avec moins de stress pour l'animal si le sujet est d'abord placé dans une chambre à induction pour un bref moment.

L'utilisation d'injections répétées de bolus d'anesthésique doit être effectuée avec précaution (Jaber et coll., 2014). Le recours à cette technique pour le maintien de l'anesthésie plutôt qu'à une autre (p. ex. anesthésie par inhalation) devrait être justifié, car il existe un risque accru de réveil précoce ou de surdosage. La perfusion intraveineuse continue est une autre option, mais elle doit être réalisée avec prudence afin d'éviter toute surcharge liquidienne.

Des conditions adéquates d'oxygénation et de ventilation ainsi que l'absence d'espace mort anatomique sont essentielles et doivent être envisagées même lorsque des agents anesthésiques injectables sont utilisés. L'hypoxie peut affecter le métabolisme et par conséquent la validité des données expérimentales. Une hypoxie prolongée peut entraîner une lésion cérébrale ou une mort subite. L'oxygène peut être administré par un masque facial, bien que l'intubation est également possible chez la souris (Konno et coll., 2014; MacDonald, 2009). Il existe des oxymètres de pouls adaptés aux souris.

Les souris sont sujettes à l'hypoglycémie, à la déshydratation et à l'hypothermie pendant l'anesthésie et les procédures chirurgicales. Les vétérinaires devraient être consultés au sujet de mesures préventives adéquates et de traitements appropriés. Ces modifications physiologiques affectent la récupération et peuvent influencer sur la qualité des données expérimentales.

Des anti-anesthésiques, s'ils sont disponibles, devraient être administrés à la fin de l'anesthésie pour accélérer le réveil. Un traitement de la douleur adéquat devrait être donné lors de procédures douloureuses, quel que soit le type d'anesthésique utilisé (voir Izer et coll. (2014) pour une analyse de l'utilisation des antagonistes en anesthésie, et de leur incidence sur le traitement de la douleur).

L'animal doit faire l'objet d'un suivi pendant la période de réveil jusqu'à ce qu'il soit capable de se déplacer, et ne devrait pas être laissé sans surveillance. Une source de chaleur externe devrait être fournie pendant et après l'anesthésie jusqu'à ce que l'animal retrouve sa capacité de thermorégulation (comme le comportement des souris favorise la régulation de leur température corporelle, il s'agit généralement du moment à partir duquel l'animal est spontanément actif, sans stimulation externe). Lorsque des appareils de chauffage sont utilisés pour toute anesthésie d'un animal, des précautions doivent être prises pour éviter une surchauffe ou des brûlures. D'autres soins adaptés devraient être fournis, comme de l'hydratation et la lubrification oculaire.

Les agents anesthésiques inhalés, comme l'isoflurane, peuvent être utilisés de manière sécuritaire pour des procédures potentiellement douloureuses chez les nouveau-nés. Si ce type d'agent ne convient pas pour des raisons de sécurité ou pour des raisons pratiques, des études menées chez les rats âgés de 4 jours indiquent que l'hypothermie peut être appropriée (Huss et coll., 2016) et qu'elle a des répercussions moins néfastes chez les souris que les approches pharmacologiques (Danneman et Mandrell, 1997). Pour réduire au minimum la douleur associée au froid, les souris devraient être enveloppés dans une couverture en latex (Danneman et Mandrell, 1997).

10.10.2 Analgésie

Principe directeur 24

L'analgésie devrait être utilisée pour réaliser une procédure invasive susceptible d'être douloureuse pour la souris.

La décision de ne pas recourir aux analgésiques dans un contexte où l'animal risque d'éprouver de la douleur (p. ex. procédures invasives, modèles de maladies comme l'arthrite) doit être approuvée par le comité de protection des animaux. Il est important de reconnaître que l'absence de signes cliniques ou de comportements associés à la douleur ne signifie pas que la souris ne souffre pas. Le traitement analgésique pour une procédure pouvant être douloureuse doit être offert même si la souris ne présente pas de signes de douleur.

La nécessité d'une analgésie et le choix du type d'analgésie sont des questions qui devraient être examinées avec le vétérinaire avant les procédures expérimentales. Une analgésie préopératoire devrait être utilisée pour des procédures susceptibles d'être douloureuses, car une douleur aiguë non traitée augmente le risque de douleurs chroniques résistantes aux analgésiques qui apparaissent à la suite d'une sensibilisation du système nerveux central (hypersensibilité post-traumatique ou *wind up*).

Il est important d'apprendre à reconnaître les signes cliniques de douleur chez la souris (sans oublier qu'elle peut masquer ses signes de douleur), et d'élaborer des stratégies pour une évaluation de la douleur aussi précise que possible. Les signes physiologiques et comportementaux devraient faire l'objet d'un suivi (voir Kohn et coll., 2007; Flecknell, 2009). Des changements dans l'expression faciale peuvent indiquer une douleur aiguë (Langford et coll., 2010; Matsumiya et coll., 2012); cependant, les vidéos ou les photos peuvent être plus adaptées à l'évaluation de la douleur de ces animaux actifs (Miller et Leach, 2015; Faller et coll., 2015). L'observation des comportements, comme le creusage et la construction de nids (Jirkof, 2014), peut être utile pour évaluer la présence et l'intensité de la douleur postopératoire et de l'inconfort, bien que ces comportements soient également influencés par d'autres facteurs de stress. Des signes comme les spasmes abdominaux et l'étirement des pattes postérieures après une intervention chirurgicale sont également de bons indicateurs de douleur ou d'inconfort (Wright-Williams et coll., 2013).

De nombreux agents analgésiques courants sont trop concentrés pour être administrés chez la souris. Pour un dosage précis, ils doivent être adéquatement dilués dans une solution stérile. L'analgésie multimodale (c'est-à-dire l'association de deux ou plusieurs agents analgésiques ayant chacun leur propre mécanisme d'action) devrait être envisagée. Cette approche peut fournir un meilleur soulagement de la douleur puisque la rapidité d'action des différents agents varie (Flecknell, 2009) et que les agents ne visent pas les mêmes voies ou récepteurs de la douleur (Gaynor, 2009). Les analgésiques sont répartis en diverses catégories, notamment les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les opioïdes et les anesthésiques locaux.

La durée et la fréquence du traitement analgésique dépendent du type d'intervention chirurgicale et de l'état de l'animal. Une analgésie prolongée peut être nécessaire pour une intervention invasive. Des formulations à libération prolongée sont offertes et peuvent aider à produire une analgésie prolongée (Healy et coll., 2014) sans le stress d'une nouvelle injection.

Dans la mesure du possible, la voie d'administration la moins invasive devrait être envisagée (p. ex. agent sous forme de gel) (voir Abelson et coll., 2012; Molina-Cimadevila et coll., 2014).

10.11 INTERVENTION CHIRURGICALE

Les interventions chirurgicales comprennent les interventions lourdes (pénétration d'une cavité du corps) et des procédures invasives comme les interventions stéréotaxiques pour le positionnement d'implants et les interventions orthopédiques. Le caractère invasif de la procédure et le temps de récupération après une intervention avec ou sans survie déterminent les exigences des diverses procédures et les mesures à prendre pour réduire le plus possible les effets négatifs sur le bien-être des animaux.

Toute intervention chirurgicale lourde devrait être effectuée dans une salle (ou une zone dédiée dans une salle de procédure) en conditions aseptiques et à l'aide de matériel stérile. Le chirurgien devrait porter une tenue appropriée, notamment des gants stériles et un masque, pour le maintien des conditions aseptiques. Les gants devraient être à usage unique. Voir Héon et ses collègues (2006) pour améliorer les techniques aseptiques.

Les instruments chirurgicaux devraient être de taille appropriée; des instruments microchirurgicaux sont essentiels pour de nombreuses interventions chez la souris. Idéalement, une pochette stérile contenant des instruments chirurgicaux devrait servir pour un seul animal. Si cela n'est pas possible, les instruments devraient être nettoyés et désinfectés de manière appropriée (p. ex. stérilisés à froid par immersion dans un stérilisant liquide suivi d'un rinçage ou à l'aide d'un stérilisateur à billes de verre chaudes suivi d'une période de refroidissement) après chaque utilisation. En collaboration avec le vétérinaire, on devrait déterminer

au préalable les procédures normalisées de fonctionnement concernant les instruments chirurgicaux et le nombre maximum d'interventions pour chaque emballage. On devrait prévoir à cet effet un nombre suffisant d'emballages pour respecter les limites fixées.

La collaboration d'un vétérinaire ou d'un technicien vétérinaire peut guider le choix d'un matériel de suture de taille appropriée à la souris sans quoi la guérison est retardée, ce qui contribue à l'inconfort postopératoire et au léchage des plaies. Le matériel de suture et les agrafes devraient être enlevés lorsque la guérison est suffisante (généralement 7 à 10 jours après l'intervention).

Des précautions particulières doivent être prises compte tenu de la petite taille de l'animal et d'éventuelles difficultés pour la surveillance pendant l'intervention en raison, entre autres, de la présence de draps chirurgicaux et d'équipements auxiliaires qui peuvent limiter les observations cliniques. Des stratégies et des équipements doivent être mis en place pour assurer une surveillance adéquate. Les préoccupations comprennent l'hypothermie, l'hypoglycémie, la déshydratation et la perte de sang. Avant l'intervention chirurgicale, la quantité maximale de perte de sang admissible devrait être établie (voir la section 10.3.1, « Sang »).

On doit procéder à un rasage préchirurgical du site de l'incision avant toute intervention. Une région délimitée autour du site devrait être rasée, et la peau préparée pour l'intervention. Comme la surface d'intervention est grande par rapport au poids de l'animal, la souris perd rapidement de la chaleur et est très vulnérable à l'hypothermie, surtout pendant la procédure (Taylor, 2007). Pour réduire au minimum ce risque, on devrait raser uniquement la zone nécessaire pour effectuer la procédure dans des conditions d'asepsie. De plus, les solutions utilisées pour la préparation de la peau devraient être appliquées sur la zone avec précision pour minimiser les effets du froid (Skorupski et coll., 2017).

Les interventions chirurgicales non terminales chez la souris sont difficiles à réaliser en raison de sa petite taille. Ce type d'intervention doit être effectué du personnel compétent. Les tissus animaux devraient être manipulés avec soin pour réduire au minimum les traumatismes inutiles. La réduction au minimum des manipulations et traumatismes tissulaires et de la tension sur les tissus pendant l'intervention permet de réduire la douleur postopératoire ressentie par l'animal et favorise sa récupération.

Des appareils de grossissement (p. ex. microscope binoculaire, loupe de tête ou loupe chirurgicale) devraient être utilisés, sous un éclairage adéquat, pour une bonne visualisation. Cependant, comme il est mentionné dans la section 3.1.1, « Éclairage », la lumière intense peut être la cause d'affections oculaires chez la souris; il est donc important de protéger les yeux de l'animal par un drap ou les maintenir fermés.

La microchirurgie chez les souris immunocompromises ou traitées avec des agents dangereux devrait être effectuée dans une enceinte de sécurité biologique.

Les souris devraient être placées sur une surface chaude pendant l'intervention chirurgicale. Pour éviter les brûlures ou une température corporelle trop élevée chez la souris, il faut utiliser les dispositifs de chauffage avec précautions.

Pour assurer une anesthésie appropriée dans le cadre de procédures invasives ou d'interventions chirurgicales, le réflexe de retrait (*pedal withdrawal reflex*) devrait faire l'objet d'un suivi régulier. Des précautions devraient être prises pour exercer une pression adéquate sur la patte pour vérifier l'absence du réflexe. La durée de l'anesthésie pour l'intervention est définie comme le temps entre la perte et le retour du réflexe de retrait (Jaber et coll., 2014). Si la patte n'est pas accessible, on peut pincer la queue doucement pour vérifier le réflexe du retrait.

Des liquides isotoniques chauds devraient être administrés pour compenser la perte par évaporation à partir des plaies chirurgicales ouvertes ainsi que la perte de sang, et pour maintenir la pression artérielle. Bien que la perfusion soit possible, l'injection intraveineuse est difficile à cause des petites veines de l'animal. Des liquides chauds peuvent également être administrés par voie intrapéritonéale ou sous-cutanée. La quantité de sang perdu devrait être réduite au minimum et faire l'objet d'un suivi pendant l'intervention chirurgicale. Si elle dépasse le maximum établi, il ne devrait pas y avoir survie.

Des registres détaillés concernant les interventions chirurgicales doivent être conservés par les chercheurs et fournis sur demande au vétérinaire, au comité de protection des animaux et, au besoin, à d'autres intervenants. Les procédures effectuées devraient être inscrites et datées sur la carte d'information apposée sur la cage pour permettre l'évaluation sur place de l'animal.

10.12 SURVEILLANCE ET SOINS POST-INTERVENTION

10.12.1 Surveillance

Principe directeur 25

La surveillance et les soins postopératoires doivent être planifiés en fonction de la procédure et des besoins particuliers de l'animal, et pouvoir être adaptés en cas d'imprévu.

Chaque animal doit être surveillé tout au long d'une procédure, dès le moment où son bien-être peut être affecté et jusqu'à sa récupération complète après l'intervention. La surveillance des procédures devrait être documentée. Même si cette tâche peut être plus difficile en raison de la petite taille des souris, la surveillance des souris devrait être effectuée avec la même rigueur que pour les autres espèces. Il peut d'ailleurs être nécessaire d'effectuer une surveillance plus étroite que pour les grands animaux, car le bien-être des rongeurs est facilement influencé.

Avant d'entreprendre une étude, les chercheurs doivent consulter les vétérinaires pour établir des procédures de surveillance et des pratiques de documentation acceptables, et les faire approuver par le comité de protection des animaux. Ils doivent entre autres établir des points limites pertinents, soit les interventions comme le traitement ou l'euthanasie. De plus, il est probable que des raffinements soient apportés à l'étude, imposant la modification du plan.

La surveillance comprend des mesures et des observations spécifiques, comme la perte de poids ou la pâleur des extrémités (signe d'anémie), ainsi que des indicateurs comportementaux (p. ex. la qualité de la nidification ou des déplacements de l'animal dans la cage). Le cas échéant, une feuille de notation devrait être validée et utilisée pour évaluer l'état de la souris (voir Nunamaker et coll., 2013; Paster et coll., 2009). La notation de l'état corporel et l'observation régulière des indicateurs physiques et comportementaux de la santé, comme ceux décrits par Folts et Ullman-Cullere (1999), peuvent être des éléments utiles d'un système de surveillance. Le stress associé aux manipulations, par exemple pour mesurer le poids et la température de la souris, devrait être pris en compte lors de l'élaboration du plan de surveillance.

Le personnel responsable de la surveillance des souris et de la documentation de leur état de santé doit être qualifié pour voir et interpréter les signes cliniques et les comportements de la souris, notamment ceux liés

à la douleur, et être au courant des registres sur les animaux et des procédures de notification, notamment les personnes à contacter en cas d'urgence. Une collaboration entre le personnel de soins aux animaux et l'équipe de chercheurs est nécessaire pour la surveillance périprocédurale. Le moment approprié pour la surveillance est très important; par exemple, les animaux devraient toujours être pesés à la même heure. Selon le cas, des mesures peuvent être nécessaires pour une surveillance des animaux en dehors des heures ouvrées et pendant la nuit. Ces manifestations peuvent varier en fonction du type de procédure et de l'âge ou du sexe de l'animal. Pour faciliter l'identification des écarts par rapport aux modèles normaux de récupération, le personnel de soins aux animaux devrait connaître à l'avance les détails de l'intervention chirurgicale.

10.12.2 Soins post-intervention

Le plan de soins post-intervention devrait être établi en collaboration avec le vétérinaire. Les analgésiques devraient être utilisés pour les soins post-intervention (voir la section 10.10.2, « Analgésie »). Cependant, d'autres approches non pharmacologiques devraient également être envisagées pour le bien-être de l'animal.

Pendant la période de récupération après une procédure, les cages devraient être placées dans un environnement propice (un endroit tranquille, lumière tamisée). Les animaux peuvent être hébergés individuellement jusqu'à ce qu'ils puissent se déplacer (Kohn et coll., 2007), avant le retour aux conditions d'hébergement initiales (Jirkof, 2015). Un hébergement individuel prolongé après une intervention peut augmenter le stress chez la souris et nuire à sa récupération (Jirkof, 2015). Après une intervention, l'ancien nid des animaux (à condition qu'il soit propre et sec) devrait être transféré dans la cage nettoyée pour réduire le stress provoqué par le nouveau milieu (Jirkof, 2015). Une litière sèche, douce et très absorbante devrait être fournie au besoin pour accroître le confort et pour empêcher la litière de coller aux plaies chirurgicales.

L'animal devrait avoir accès à la nourriture et à l'eau même si ses mouvements sont restreints. On devrait donner des aliments mous et savoureux pour favoriser une récupération rapide et un retour à une digestion normale (p. ex. à la suite de l'anesthésie). Tout nouvel aliment ou complément alimentaire devrait déjà avoir été offert à l'animal avant la procédure et donc être quelque chose de familier. Les soins post-intervention doivent être assurés jusqu'à la récupération complète de l'animal.

Lorsque des soins palliatifs sont nécessaires, l'hydratation des animaux est particulièrement importante. Il peut être nécessaire d'utiliser d'autres sources d'eau comme les hydrogels si l'animal ne peut pas s'abreuver. On doit surveiller les animaux et, au besoin, leur administrer des liquides par voie sous-cutanée, intrapéritonéale ou intraveineuse sous la supervision d'un vétérinaire. S'il est nécessaire de noter le poids corporel tous les jours, on devrait utiliser un petit récipient pour retirer l'animal de sa cage (Hurst et West, 2010). On devrait consulter le vétérinaire concernant les autres considérations propres aux soins des plaies.

11 EUTHANASIE

Principe directeur 26

L'euthanasie des souris doit être réalisée uniquement par du personnel qualifié, et selon la méthode qui convient le mieux à l'animal, au contexte d'hébergement et à l'étude.

Les principes directeurs généraux décrits dans les [Lignes directrices du CCPA sur : l'euthanasie des animaux utilisés en sciences](#) (CCPA, 2010) s'appliquent à l'euthanasie de tous les animaux en science. Des considérations supplémentaires sont examinées dans un rapport de la deuxième réunion de Newcastle sur l'euthanasie des animaux de laboratoire (Hawkins et coll., 2016). Cette section fournit des informations complémentaires sur l'euthanasie de la souris.

Pour toutes les méthodes d'euthanasie chez la souris, les exigences suivantes sont importantes :

- le personnel qui participe à la procédure doit avoir reçu une formation et être compétent pour effectuer cette procédure chez la souris et s'assurer de la mort de l'animal;
- l'équipement doit être entretenu et nettoyé avant et après emploi;
- le stress causé par la manipulation devrait être réduit le plus possible;
- les animaux incompatibles ne doivent pas être dans le même compartiment avant l'euthanasie;
- les animaux devraient idéalement être euthanasiés dans leur cage d'origine dans le cas d'une méthode au gaz;
- les souriceaux non sevrés devraient être séparés de la mère juste avant d'être euthanasiés (sauf si on leur offre une source de chaleur supplémentaire);
- les animaux doivent être surveillés pendant toute la procédure d'euthanasie, jusqu'à ce que la mort soit confirmée.

Parmi les enjeux qui devraient être pris en compte dans le choix de la méthode d'euthanasie la plus appropriée pour les souris, mentionnons : leur petite taille et la difficulté de la ponction des vaisseaux sanguins, leur structure sociale, leur sensibilité aux déplacements, leur susceptibilité au stress du fait des manipulations et le grand nombre d'animaux à euthanasier. Le choix devrait tenir compte de ces facteurs au vu des effets que la méthode d'euthanasie peut avoir sur le bien-être des souris et non de multiples raisons de commodité ou d'économie.

11.1 MÉTHODE PAR INJECTION

Comme il est mentionné dans les [Lignes directrices du CCPA sur : l'euthanasie des animaux utilisés en sciences](#) (CCPA, 2010), une surdose d'anesthésiques à injecter (généralement défini comme le double de la dose efficace pour l'anesthésie) est une méthode d'euthanasie acceptable si la mort peut être constatée ou si elle est suivie d'une autre méthode qui permet de s'assurer de la mort de l'animal. Toutefois, l'administration intrapéritonéale de substances irritantes (p. ex. le pentobarbital) peut provoquer de la douleur et produire

des résultats inconsistants chez le rat (Chisholm et Pang, 2016); c'est pourquoi cette méthode devrait être évaluée attentivement et approuvée par le comité de protection des animaux. L'ajout de lidocaïne ou d'un autre agent anesthésique local à l'injection de pentobarbital peut réduire les effets négatifs sur le bien-être (Khoo et coll., 2018).

Après la méthode d'euthanasie principale, une deuxième étape peut immédiatement être mise en œuvre, sans permettre le retour à la sensibilité de l'animal. Les [Lignes directrices du CCPA sur : l'euthanasie des animaux utilisés en sciences](#) (CCPA, 2010) contiennent des suggestions pour cette deuxième étape, soit l'exsanguination par prélèvement de sang ou d'organes, la dislocation cervicale, la décapitation ou l'ouverture du thorax. Chez la souris, l'injection intracardiaque de chlorure de potassium (KCl) et la perfusion (p. ex. injection intraveineuse de formol ou de paraformaldéhyde) sont d'autres possibilités comme méthode secondaire pourvu que l'animal est inconscient ou sous anesthésie profonde.

11.2 TECHNIQUES PAR INHALATION

L'euthanasie par inhalation soulève des préoccupations pour le bien-être des souris et doit être une démarche réfléchie.

Chez la souris, une surdose d'un anesthésique inhalé (p. ex. isoflurane ou sévoflurane) est une méthode efficace d'euthanasie, caractérisée par la rapidité de l'induction et de la perte de conscience. Comme la période précédant la mort peut être prolongée, le recours à une seconde méthode visant à s'assurer de la mort est recommandé à partir du moment où l'animal est inconscient et sous anesthésie profonde. Voir des suggestions de méthodes secondaires à la section 11.1, « Injection ».

Les [Lignes directrices du CCPA sur : l'euthanasie des animaux utilisés en sciences](#) (CCPA, 2010) fournissent de l'information sur l'utilisation du dioxyde de carbone (CO₂) dans le cadre de l'euthanasie. Il est recommandé si possible d'utiliser au préalable un anesthésique inhalé, car l'exposition au dioxyde de carbone est susceptible de causer de la douleur et de la détresse chez la souris (Leach et coll., 2004; Moody et coll., 2014). Bien que l'exposition aux anesthésiques inhalés cause une réaction d'aversion chez les rongeurs, il a été démontré que la souris réagit moins à l'isoflurane qu'au CO₂ (Makowska et coll., 2009). On devrait cependant tenir compte du fait que l'exposition répétée à l'isoflurane fait augmenter la réaction d'aversion (Wong et coll., 2012; Moody et Weary, 2014), ce qui devrait être pris en considération. De nombreuses recherches sont en cours dans le domaine des techniques par inhalation, il faut donc examiner attentivement toute nouvelle information à ce sujet (voir Thomas et coll., 2012; Valentim et coll., 2015; Boivin et coll., 2016a; Boivin et coll., 2016b; Boivin et coll., 2017; Creamer-Hente et coll., 2018). De plus, Baker et Hickman (2018) soulignent que les résultats de mesures effectuées par plusieurs observateurs peuvent diverger en ce qui concerne l'exposition aux anesthésiques par inhalation.

Pour la sécurité des personnes, les gaz doivent être correctement récupérés lors de la procédure.

Comme il est mentionné dans les [Lignes directrices du CCPA sur : l'euthanasie des animaux utilisés en sciences](#) (CCPA, 2010), on doit remplacer complètement l'air dans la chambre contenant le CO₂ entre chaque groupe d'animaux euthanasiés. Il est particulièrement important pour les souris d'attendre que le gaz se soit dissipé avant d'utiliser la chambre; autrement, les souris peuvent être exposées à une concentration de CO₂ pouvant provoquer une détresse respiratoire (voir Djoufack-Momo et coll. (2014) pour de l'information sur la dissipation du CO₂).

11.3 MÉTHODES PHYSIQUES

Les méthodes physiques sont souvent utilisées pour éviter la variabilité liée à l'utilisation de sédatifs ou de drogues utilisées pour l'euthanasie. Par exemple, les méthodes de dislocation cervicale et de décapitation ne sont généralement pas liées à une concentration élevée de cortisol (hormone du stress) chez l'animal lorsqu'elles sont effectuées correctement.

Si des méthodes physiques sont nécessaires pour l'euthanasie des souris, elles doivent être effectuées uniquement par des personnes très compétentes, justifiées par le protocole, et approuvées par le comité de protection des animaux. Comme il est mentionné dans les *Lignes directrices du CCPA sur : l'euthanasie des animaux utilisés en sciences* (CCPA, 2010), la dislocation cervicale et la décapitation sont des méthodes acceptables sous condition en raison de la possibilité pour l'animal de ressentir de la douleur ou de la détresse si la procédure n'est pas correctement effectuée. Dans la mesure du possible, d'autres méthodes d'euthanasie devraient être choisies.

On devrait envisager l'administration de sédatifs ou d'agents anesthésiques avant la dislocation cervicale (Carbone et coll., 2012). Cette méthode, qui nécessite une grande habileté et une compétence ainsi qu'une main ferme, ne devrait pas être considérée comme une méthode courante pour l'euthanasie des souris.

La décapitation nécessite une contention adéquate de la souris. Les procédures normalisées de fonctionnement doivent être respectées pour assurer la sécurité du manipulateur. L'administration de sédatifs ou anesthésiques avant d'effectuer la procédure devrait également être envisagée. Si cela est contre-indiqué par le protocole de recherche, des appareils de contention en plastique peuvent être utilisés pour positionner l'animal et éviter des erreurs de manipulation.

11.4 AUTRES MÉTHODES

Pour l'euthanasie des souris, certaines études nécessitent l'utilisation d'une irradiation par micro-ondes dont le faisceau permet de préserver les métabolites en vue d'une analyse ultérieure (Zhang et Good, 2011; AVMA, 2013). L'emploi d'instruments spécialement conçus pour l'euthanasie des rongeurs de laboratoire par des personnes compétentes permet de provoquer une perte de conscience rapide et la mort de l'animal (AVMA, 2013). Cette méthode doit être justifiée et approuvée au préalable par le comité de protection des animaux, car elle nécessite une immobilisation de l'animal.

11.5 EUTHANASIE DE LA SOURIS NON SEVRÉE

Comme les fœtus sont susceptibles de ressentir tôt la douleur, la méthode choisie pour l'euthanasie de femelles gestantes devrait garantir une anoxie cérébrale rapide des fœtus pour éviter la perturbation du milieu utérin et l'éveil des sens du fœtus.

Si des fœtus sont requis pour l'étude, des méthodes physiques d'euthanasie comme la décapitation avec des ciseaux sont préférables. L'exsanguination sous anesthésie peut également être utilisée. L'injection intraplacentaire de pentobarbital peut être utilisée si un examen histologique du fœtus est requis pour l'étude ou s'il faut éviter l'hypoxie.

Il est préférable d'euthanasier les nouveau-nés (0 à 13 jours) par décapitation. Pour les animaux non sevrés et âgés d'au moins 14 jours, on peut utiliser l'isoflurane suivi d'une seconde méthode d'euthanasie.

Enfin, on peut procéder par congélation rapide dans de l'azote liquide après anesthésie pour l'euthanasie de fœtus et de nouveau-nés (Artwohl et coll., 2006).

12

FIN DE L'ÉTUDE

12.1 TRANSFERT DE SOURIS ENTRE ÉTABLISSEMENTS OU PROTOCOLES

Voir la section 4, « Acquisition », pour tout savoir sur le transfert de souris à un autre établissement à la fin d'une étude, particulièrement en matière de réglementation, de registres et de transfert. Comme il y est mentionné, le transfert est possible si l'animal n'a pas subi de procédures invasives et est apte au transport.

Si l'animal est transféré à un établissement qui n'est pas certifié par le CCPA, l'expéditeur est responsable de s'assurer que le destinataire peut bien en prendre soin.

12.2 ADOPTION DES ANIMAUX

Dans la mesure permise par les autorités de réglementation, les personnes qui ont les connaissances et la capacité de prendre soin de souris de laboratoire en santé (non modifiées génétiquement) peuvent acquérir ces souris généralement acceptées comme animaux de compagnie auprès d'établissements qui souhaitent s'en départir. Cela ne peut pas être le cas pour toute souris génétiquement modifiée. Les établissements devraient élaborer une politique adéquate qui décrit les conditions à remplir avant qu'un animal de laboratoire puisse devenir un animal de compagnie. Les établissements devraient s'assurer que les personnes qui adoptent des souris de laboratoire connaissent les soins requis par ces animaux.

12.3 ÉLIMINATION DES ANIMAUX MORTS

Les souris mortes doivent être éliminées en conformité avec les règlements fédéraux, provinciaux ou territoriaux et municipaux en matière d'élimination de matières biologiques.

SANTÉ ET SÉCURITÉ DES PERSONNES

13

Les établissements ont des programmes de santé et sécurité des personnes pour se pencher sur cette question au moyen de l'évaluation des risques. Les comités de protection des animaux des établissements sont responsables de s'assurer que la mise en œuvre de ces programmes de sorte que tout risque pour la santé et sécurité soit évalué convenablement.

Les personnes qui travaillent avec des animaux doivent respecter les politiques et les procédures normalisées de fonctionnement de l'établissement en matière de mesures de prévention et de protection appropriées. Pour toute question sur les allergènes d'origine animale et les maladies zoonotiques ou un autre risque lié à une étude (p. ex. l'utilisation de cellules humaines ou l'exposition à des produits chimiques, à des radiations ou à des gaz anesthésiques), on devrait solliciter les conseils de professionnels.

Les allergies aux animaux de laboratoire, déclenchées par la présence de protéines de rongeurs, peuvent avoir des effets à long terme sur la santé des personnes qui travaillent avec des souris (Palmberg et coll., 2015). Les mesures de contrôle de l'exposition aux substances animales pouvant provoquer des allergies devraient être fondées sur l'analyse des risques (voir Westall et coll., 2015). Voici des mesures pour réduire le plus possible l'exposition aux allergènes :

- mécanismes techniques – installations bien conçues, ventilation adéquate, enceintes de sécurité biologique ou hottes de laboratoire pour travailler avec les souris (dans la mesure du possible), station de vidange de la litière souillée, cage et litière appropriées;
- mesures administratives – méthodes de travail et formation pour réduire l'exposition du personnel (p. ex. rotation, bon entretien des locaux, pratiques d'hygiène personnelle comme le lavage des mains et la douche);
- équipement de protection individuelle – vêtements particuliers (y compris des gants, des bonnets, des chaussures ou des couvre-chaussures, une protection des yeux et une protection adéquate des voies respiratoires (Harrison, 2001).

Une approche globale devrait être adoptée. Par exemple, la seule utilisation d'une enceinte de sécurité biologique n'est pas suffisante comme protection contre les allergènes lors du brassage de la litière pour la changer (Westall et coll., 2015; Feistenauer et coll., 2014).

Si les souris ne sont pas achetées auprès de fournisseurs réputés (comme il est indiqué dans la section 4, « Aquisition »), la présence possible de microbes zoonotiques peut accroître les risques pour la santé humaine. Les souris sauvages peuvent également avoir été exposées à des agents pathogènes connus chez l'humain comme, entre autres, le virus de la chorioméningite lymphocytaire, le hantavirus, le leptovirus, la tularémie et la salmonelle.

Les souris utilisées comme modèles de maladies infectieuses peuvent être volontairement infectées avec des agents zoonotiques dans le cadre d'un protocole de recherche, ou involontairement avec des agents infectieux lors d'injections de produits biologiques ou de lignées cellulaires (Peterson, 2008). L'un des principaux agents zoonotiques est le virus de la chorioméningite lymphocytaire (voir ACIA, 2011). Les membres du

personnel présentant une immunodéficience connue ou présumée ou une fonction immunitaire réduite sont probablement plus exposés aux risques d'infection par certains agents pathogènes murins.

En cas de préoccupations en matière de biosécurité (y compris les cas de recours à des vecteurs viraux pour l'introduction de transgènes), les établissements devraient transmettre les protocoles au comité ou au responsable de la biosécurité pour examen par le comité de protection des animaux. Le comité ou le responsable prendra les dispositions nécessaires pour correctement classifier l'organisme en cause et adéquatement évaluer les risques afin de déterminer les conditions nécessaires pour l'hébergement et les soins des animaux et les dispositions à prendre à la fin du protocole.

Les personnes qui travaillent avec des souris devraient prendre les précautions nécessaires pour ne pas se faire mordre ou égratigner. Elles devraient également faire preuve de prudence lors de l'utilisation d'aiguilles ou d'autres instruments tranchants, car la petite taille des souris peut accroître le risque de blessures chez la personne qui manipule l'animal.

RÉFÉRENCES

Abelson K.S., Jacobsen K.R., Sundbom R., Kalliokoski O. et Hau J. (2012) Voluntary ingestion of nut paste for administration of buprenorphine in rats and mice. *Laboratory Animals* 46(4):349-351.

Agence canadienne d'inspection des aliments – ACIA (2011) [Fiche Technique Santé-Sécurité : Agents Pathogènes – Virus de la chorioméningite lymphocytaire](#). Ottawa ON: Gouvernement du Canada (consulté le 2019-07-26).

Ambery A.G., Tackett L., Penque B.A., Hickman D.L. et Elmendorf J.S. (2014) Effect of corncob bedding on feed conversion efficiency in a high-fat diet-induced prediabetic model in C57Bl/6J mice. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 53(5):449-451.

American Veterinary Medical Association – AVMA (2013) [AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals](#). Schaumburg IL: AVMA (consulté le 2019-07-26).

André V., Gau C., Scheideler A., Aguilar-Pimental J.A., Amarie O.V., Becker L., Garrett, L., Hans W., Hölter S.M., Janik D., Moreth, K., Neff F., Östereicher M., Racz I., Rathkolb B., Rozman J., Bekeradjian R., Graw J., Klingenspor M., Klopstock T., Ollert M., Schmidt-Weber C., Wolf E., Wurst W., Gailus-Durner V., Brielmeier M., Fuchs H. et Hrabé de Angelis M. (2018) [Laboratory mouse housing conditions can be improved using common environmental enrichment without compromising data](#). *PLoS Biology* 16(4):e2005019 (consulté le 2019-07-26).

Annas A., Bengtsson C. et Törnqvist E. (2013) Group housing of male CD1 mice: Reflections from toxicity studies. *Laboratory Animals* 47(2):127-129.

Antony B.J., Jeong W., Abràmoff M.D., Vance J., Sohn E.H. et Garvin M.K. (2014) Automated 3D segmentation of intraretinal surfaces in SD-OCT volumes in normal and diabetic mice. *Translational Vision Science & Technology* 3(5):8.

Arakawa H., Blanchard D.C., Arakawa K., Dunlap C. et Blanchard R.J. (2008) Scent marking behavior as an odorant communication in mice. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 32(7):1236-1248.

Arantes-Rodrigues R., Henriques A., Pinto-Leite R., Faustino-Rocha A., Pinho-Oliveira J., Teixeira-Guedes C., Seixas F., Gama A., Colaço B., Colaço A. et Oliveira P.A. (2012) The effects of repeated oral gavage on the health of male CD-1 mice. *Laboratory Animals (NY)* 41(5):129-134.

Arndt S.S., Laarakker M.C., van Lith H.A., van der Staay F.J., Gieling E., Salomons A.R., van't Klooster J. et Ohl F. (2009) Individual housing of mice – impact on behaviour and stress responses. *Physiology and Behavior* 97(3-4):385-393.

Artwohl J., Brown P., Corning B. et Stein S. (2006) Report of the ACLAM Task Force on rodent euthanasia. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 45(1):98-105.

Association canadienne de la médecine des animaux de laboratoire – ACMAL (2007) [Normes de l'ACMAL sur les soins vétérinaires](#). Toronto ON: ACMAL (consulté le 2019-07-26).

Aubert A., Goodall G., Dantzer R. et Gheusi G. (1997) Differential effects of lipopolysaccharide on pup retrieving and nest building in lactating mice. *Brain, Behavior and Immunity* 11(2):107-118.

- Bachmanov A.A., Reed D.R., Beauchamp G.K. et Tordoff M.G. (2002) Food intake, water intake, and drinking spout side preference of 28 mouse strains. *Behavior Genetics* 32(6):435-443.
- Baker B.A. et Hickman D.L. (2018) Bias in rating of rodent distress during anesthesia induction for anesthesia compared with euthanasia. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 57(2):143-156.
- Bailoo J.D., Murphy E., Varholick J.A., Novak J., Palme R. et Würbel H. (2018) [Evaluation of the effects of space allowance on measures of animal welfare in laboratory mice](#). *Scientific Reports* 8(1):713 (consulté le 2019-07-26).
- Barabino S., Rolando M., Chen L. et Dana M.R. (2007) Exposure to a dry environment induces strain-specific responses in mice. *Experimental Eye Research* 84(5):973-977.
- Barnard C.J., Behnke J.M. et Sewell J. (1996) Environmental enrichment, immunocompetence, and resistance to *Babesia microti* in male mice. *Physiology and Behavior* 60(5):1223-1231.
- Barthold S.W. (2016) *Pathology of Laboratory Rodents and Rabbits*, 4th ed. Ames IA: Wiley-Blackwell.
- Baumans V. (2005) Environmental enrichment for laboratory rodents and rabbits: requirements of rodents, rabbits, and research. *Institute for Laboratory Animal Research Journal* 46(2):162-170.
- Baumans V. (2010) The laboratory mouse. Dans: *The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory and other Research Animals*, 8^e éd. (Hubrecht R. et Kirkwood J., éd.). Oxford R.-U.: Wiley-Blackwell, p. 276-310.
- Baumans V. et Van Loo P.L.P. (2013) How to improve housing conditions of laboratory animals: The possibilities of environmental refinement. *The Veterinary Journal* 195(1):24-32.
- Baumgardner D.J., Ward S.E. et Dewsbury D.A. (1980) Diurnal patterning of eight activities in 14 species of muroid rodents. *Animal Learning and Behavior* 8(2):322-330.
- Bazille P.G., Walden S.D., Koniar B.L. et Gunther R. (2001) Commercial cotton nesting material as a predisposing factor for conjunctivitis in athymic nude mice. *Laboratory Animals* 30(5):40-42.
- Bechard A., Meagher R. et Mason G. (2011) Environmental enrichment reduces the likelihood of alopecia in adult C57BL/6J mice. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 50(2):171-174.
- Bechard A., Nicholson A. et Mason G. (2012) Litter size predicts adult stereotypic behavior in female laboratory mice. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 51(4):407-411.
- Becker J.B., Arnold A.P., Berkley K.J., Blaustein J.D., Eckel L.A., Hampson E., Herman J.P., Marts S., Sadee W., Steiner M., Taylor J. et Young E. (2005) Strategies and methods for research on sex differences in brain and behavior. *Endocrinology* 146(4):1650-1673.
- Bedrosian T.A., Vaughn C.A., Weil Z.M. et Nelson R.J. (2013) Behaviour of laboratory mice is altered by light pollution within the housing environment. *Animal Welfare* 22(4):483-487.
- Berry R.J. et Bronson F.H. (1992) Life history and bioeconomy of the house mouse. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society* 67(4):519-550.
- Berry M.L. et Linder C.C. (2007) Breeding systems: Considerations, genetic fundamentals, genetic background, and strain types (chapitre 4). Dans: *The Mouse in Biomedical Research*, 2^e éd. (Fox J., Barthold S., Davisson M., Newcomer C., Quimby F. et Smith A., éd.). Amsterdam, The Netherlands: Elsevier, p. 53-78.

- Bind R.H., Minney S.M., Rosenfeld S. et Hallock R.M. (2013) The role of pheromonal responses in rodent behavior: Future directions for the development of laboratory protocols. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 52(2):124-129.
- Blom H.J.M., van Tintelen G., van Vorstenbosch C.J.A.H.V., Baumans V. et Beynen A.C. (1996) Preferences of mice and rats for types of bedding. *Laboratory Animals* 30(3):234-244.
- Boivin G.P., Bottomley M.A., Dudley E.S., Schiml P.A., Wyatt C.N. et Grobe N. (2016a) Physiological, behavioral, and histological responses of male C57BL/6N mice to different CO₂ chamber replacement rates. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 55(4):451-461.
- Boivin G.P., Bottomley M.A. et Grobe N. (2016b) Responses of male C57BL/6N mice to observing the euthanasia of other mice. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 55(4):406-411.
- Boivin G.P., Hickman D.L., Creamer-Hente M.A., Pritchett-Corning K.R. et Bratcher N.A. (2017) Review of CO₂ as a euthanasia agent for laboratory rats and mice. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 56(5):491-499.
- Bonaparte D., Cinelli P., Douni E., Hérault Y., Maas M., Pakarinen P., Poutanen M., Lafuente M.S. et Scavizzi F. (2013) FELASA guidelines for the refinement of methods for genotyping genetically-modified rodents: A report of the Federation of European Laboratory Animal Science Associations Working Group. *Laboratory Animals* 47(3):134-145.
- Braden G.C., Rasmussen S., Monette S. et Tolwani R.J. (2017) Effects of breeding configuration on maternal and weaning behavior in laboratory mice. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 56(4):369-376.
- Brielmeier M., Mahabir E., Needham J.R., Lengger C., Wilhelm P. et Schmidt J. (2006) Microbiological monitoring of laboratory mice and biocontainment in individually ventilated cages: A field study. *Laboratory Animals* 40(3):247-260.
- Broderson J.R., Lindsey J.R. et Crawford J.E. (1976) The role of environmental ammonia in respiratory mycoplasmosis of rats. *American Journal of Pathology* 85(1):115-127.
- Brown M.J. et Murray K.A. (2006) Phenotyping of genetically engineered mice: Humane, ethical, environmental and husbandry issues. *Institute for Laboratory Animal Research Journal* 47(2):118-123.
- Buhot-Averseng M.-C. (1981) Nest-box choice in the laboratory mouse: Preferences for nest-boxes differing in design (size and/or shape) and composition. *Behavioural Processes* 6(4):337-384.
- Burman O., Buccarello L., Redaelli V. et Cervo L. (2014) The effect of two different individually ventilated cage systems on anxiety-related behaviour and welfare in two strains of laboratory mouse. *Physiology and Behavior* 124:92-99.
- Campuzano A., Cambras T., Vilaplana J., Canal M.M., Carulla M. et Diez-Noguera A. (1999) Period length of the light-dark cycle influences the growth rate and food intake in mice. *Physiology & Behavior* 67(5):791-797.
- Canastar A. et Maxson S.C. (2003) Sexual aggression in mice: Effects of male strain and of female estrous state. *Behavioural Genetics* 33(5):521-528.
- Carbone L., Carbon E.T., Yi E.M., Bauer D.B., Lindstrom K.A., Parker J.M., Austin J.A., Seo Y., Gandhi A.D. et Wilkerson J.D. (2012) Assessing cervical dislocation as a humane euthanasia method in mice. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 51(3):352-356.

- Carty A.J. (2008) Opportunistic infections of mice and rats: Jacoby and Lindsey revisited. *Institute for Laboratory Animal Research Journal* 49(3):272-276.
- Casellas J. (2011) Inbred mouse strains and genetic stability: A review. *Animal* 5(1):1-7.
- Chamove A.S. (1989) Cage design reduces emotionality in mice. *Laboratory Animals* 23(3):215-219.
- Chia R., Achilli F., Festing M.F. et Fisher E.M. (2005) The origins and uses of mouse outbred stocks. *Nature Genetics* 37(11):1181-1816.
- Chisholm J.M. et Pang D.S.J. (2016) Assessment of carbon dioxide, carbon dioxide/oxygen, isoflurane and pentobarbital killing methods in adult female Sprague-Dawley rats. *PLoS One* 11(9):e0162639.
- Cinelli P., Rettich A., Seifert B., Bürki K. et Arras M. (2007) Comparative analysis and physiological impact of different tissue biopsy methodologies used for the genotyping of laboratory mice. *Laboratory Animals* 41(2):174-184.
- Clarkson J.M., Dwyer D.M., Flecknell P.A., Leach M.C. and Rowe C. (2018) [Handling method alters the hedonic value of reward in laboratory mice](#). *Scientific Reports* 8(1):2448 (consulté le 2019-07-26).
- Classen V. (1994) Food and water intake. Dans: *Techniques in the Behavioral and Neural Sciences* (Huston J.P., éd.) New York NY: Elsevier, p. 267-287.
- Clavel T., Lagkouvardos I., Blaut M. et Stecher B. (2016) The mouse gut microbiome revisited: From complex diversity to model ecosystems. *International Journal of Medical Microbiology* 306(5):316-327.
- Clifford C.B. et Watson J. (2008) Old enemies, still with us after all these years! *Institute for Laboratory Animal Research Journal* 49(3):291-302.
- Clipperton-Allen A.E., Ingrao J.C., Ruggiero L., Batista L., Ovari J., Hammermueller J., Armstrong J.N., Bienzle D., Choleris E. et Turner P.V. (2015) Long-term provision of environmental resources alters behavior but not physiology or neuroanatomy of male and female BALB/c and C57BL/6 mice. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 54(6):718-730.
- Clough G. (1982) Environmental effects on animals used in biomedical research. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society* 57(3):487-523.
- Compton S.R. et Macy J.D. (2015) Effect of cage-wash temperature on the removal of infectious agents from caging and the detection of infectious agents on the filters of animal bedding-disposal cabinets by PCR analysis. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 54(6):745-755.
- Conseil canadien de protection des animaux – CCPA (1998) [Lignes directrices du CCPA sur : choisir un point limite approprié pour les expériences faisant appel à l'utilisation des animaux en recherche, en enseignement et dans les tests](#). Ottawa ON: CCPA (consulté le 2019-07-26).
- Conseil canadien de protection des animaux – CCPA (2002) [Lignes directrices du CCPA sur : la production d'anticorps](#). Ottawa ON: CCPA (consulté le 2019-07-26).
- Conseil canadien de protection des animaux – CCPA (2003) [Lignes directrices du CCPA sur : les animaleries – les caractéristiques, la conception et le développement](#). Ottawa ON: CCPA (consulté le 2019-07-26).
- Conseil canadien de protection des animaux – CCPA (2007) [Lignes directrices du CCPA sur : l'acquisition des animaux utilisés en science](#). Ottawa ON: CCPA (consulté le 2019-07-26).

- Conseil canadien de protection des animaux – CCPA (2010) *Lignes directrices du CCPA sur : l'euthanasie des animaux utilisés en science*. Ottawa ON: CCPA (consulté le 2019-07-26).
- Conseil canadien de protection des animaux – CCPA (2014) *Recommandations pour les meilleures pratiques de facilitation du partage des animaux et des tissus animaux*. Ottawa ON: CCPA (consulté le 2019-07-26).
- Conseil canadien de protection des animaux – CCPA (2015) *Lignes directrices du CCPA sur : la formation du personnel qui travaille avec des animaux en science*. Ottawa ON: CCPA (consulté le 2019-07-26).
- Conseil canadien de protection des animaux – CCPA (2017) *Lignes directrices du CCPA : les soins et la gestion des animaux en science*. Ottawa ON: CCPA (consulté le 2019-07-26).
- Creamer-Hente M.A., Lao F.K., Dragos Z.P. et Waterman L.L. (2018) Sex- and strain-related differences in the stress response of mice to CO₂ euthanasia. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 57(5):513-519.
- Crowcroft P. et Rowe F.P. (1963) Social organization and territorial behaviour in the wild house mouse (*Mus musculus* L). *Proceedings of the Zoological Society London* 140(3):517-531.
- Curley J.P., Davidson S., Bateson P. et Champagne F.A. (2009a) Social enrichment during postnatal development induces transgenerational effects on emotional and reproductive behavior in mice. *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 3:25.
- Curley J.P., Jordan E.R., Swaney W.T., Izraelit A., Kammel S. et Champagne F.A. (2009b) The meaning of weaning: Influence of the weaning period on behavioral development in mice. *Developmental Neuroscience* 31(4):318-331.
- Czarnomska A. et Wezyk J. (1974) The effect of some external environmental factors on the index of productivity, Q, in various inbred mouse strains. *Zwierzeta Laboratoryjne* 10(2):18-24.
- Dahlborn K., Bugnon P., Nevalainen T., Raspa M., Verbost P. et Spangenberg E. (2013) Report of the Federation of European Laboratory Animal Science Associations Working Group on Animal Identification. *Laboratory Animals* 47(1):2-11.
- Danneman P.J. et Mandrell T.D. (1997) Evaluation of five agents/methods for anesthesia of neonatal rats. *Laboratory Animal Science* 47(4):386-395.
- David J.M., Knowles S., Lamkin D.M. et Stout D.B. (2013) Individually ventilated cages impose cold stress on laboratory mice: A source of systemic experimental variability. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 52(6):738-744.
- Deacon R. (2012) Assessing burrowing, nest construction, and hoarding in mice. *Journal of Visualized Experiments* 59:e2607.
- De Vera Mudry M.C., Kronenberg S., Komatsu S.I. et Aguirre G.D. (2013) Blinded by the light: Retinal phototoxicity in the context of safety studies. *Toxicologic Pathology* 41(6):813-825.
- Diehl K.-H., Hull R., Morton D., Pfister R., Rabemampianina Y., Smith D., Vidal J.-M. et van de Vorstenbosch C. (2001) A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes. *Journal of Applied Toxicology* 21(1):15-23.
- Djoufack-Momo S.M., Amparan A.A., Grunden B. et Boivin G.P. (2014) Evaluation of carbon dioxide dissipation within a euthanasia chamber. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 53(4):404-407.

- Donnelly H. (1989) Effects of humidity on breeding success in laboratory mice. Dans: *Rodents Proceedings of a Symposium Organized by the Universities Federation for Animal Welfare* (Laboratory Animal Welfare Research, éd.). Royal Holloway and Bedford New College, University of London, Egham, Surrey, R.-U., 22 avril 1988, p. 17-24.
- Dufour B.D., Adeola O., Cheng H.W., Donkin S.S., Klein J.D., Pajor E.A. et Garner, J.P. (2010) Nutritional up-regulation of serotonin paradoxically induces compulsive behavior. *Nutritional Neuroscience* 13(6):256-264.
- Duke J.L., Zammit T.G. et Lawson D.M. (2001) The effects of routine cage-changing on cardiovascular and behavioral parameters in male Sprague-Dawley rats. *Contemporary Topics in Laboratory Animal Science* 40(1):17-20.
- Everitt J.I., Ross P.W. et Davis T.W. (1988) Urologic syndrome associated with wire caging in AKR mice. *Laboratory Animal Science* 38(5):609-611.
- Fahey J.R., Katoh H., Malcolm R. et Perez A.V. (2013) The case for genetic monitoring of mice and rats used in biomedical research. *Mammalian Genome* 24(3-4):89-94.
- Faller K.M.E., McAndrew D.J., Schneider J.E et Lygate C.A. (2015) Refinement of analgesia following thoracotomy and experimental myocardial infarction using the Mouse Grimace Scale. *Experimental Physiology* 100(2):164-172.
- Fathollahia A., Jasemib M. et Sakic G. (2013) Effect of noise stress on male rat fertility, and the protective effect of vitamins C and E on its potential effect. *Arab Journal of Urology* 11(1):101-105.
- Feistenauer S., Sander I., Schmidt J., Zahradnik E., Raulf M. et Brielmeier M. (2014) Influence of 5 different caging types and the use of cage-changing stations on mouse allergen exposure. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 54(4):356-363.
- Fentener van Vlissingen J., Borrens M., Girod A., Lelovas P., Morrison F. et Torres Y.S. (2015) The reporting of clinical signs in laboratory animals: FELASA Working Group Report. *Laboratory Animals* 49(4):267-283.
- Ferrechia C.E., Jensen K. et Van Andel R. (2014) Intracage ammonia levels in static and individually ventilated cages housing C57BL/6 mice on 4 bedding substrates. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 53(2):146-151.
- Filipski E., Innominato P.F., Wu M., Li X.M., Iacobelli S., Xian L.J. et Lévi F. (2005) Effects of light and food schedules on liver and tumor molecular clocks in mice. *Journal of the National Cancer Institute* 97(7):507-517.
- Finlay J.B., Liu X., Ermel R.W. et Adamson T.W. (2015) Maternal weight gain as a predictor of litter size in Swiss Webster, C57BL/6J, and BALB/cJ mice. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 54(6):694-699.
- Flecknell P. (2009) Introduction. In: *Laboratory Animal Anaesthesia*, 3^e éd. Cambridge ME: Academic Press.
- Flecknell P. (2018) Rodent analgesia: Assessment and therapeutics. *Veterinary Journal* 232:70-77.
- Flecknell P., Leach M. et Bateson M. (2011) Affective state and quality of life in mice. *Pain* 152(5):963-964.
- Foltz C. J. et Ullman-Culleré M. (1999) Guidelines for assessing the health and condition of mice. *Laboratory Animals* 28(4):28-32.

- Food and Drug Administration – FDA (2007) [Toxicological principles for the safety assessment of food ingredients](#). Dans: *Redbook 2000*. Chapitre IV.B.1. General Guidelines for Designing and Conducting Toxicity Studies (consulté le 2019-07-26).
- Foster H.L., Small D. et Fox J.G. (éd.) (1983) *The Mouse in Biomedical Research, Volume 3: Normative Biology, Immunology and Husbandry*. Cambridge ME: Academic Press.
- Fox J. G., Barthold S., Davisson M., Newcomer C.E., Quimby F.W. et Smith A.L. (éd.) (2007) *The Mouse in Biomedical Research, Volume 2: Diseases*. Cambridge ME: Academic Press.
- Francisco C.C., Howarth G.S. et Whittaker A.L. (2015) Effects on animal wellbeing and sample quality of 2 techniques for collecting blood from the facial vein of mice. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 54(1):76-80.
- Franklin C.L. (2006) Microbial considerations in genetically engineered mouse research. *Institute for Laboratory Animal Research Journal* 47(2):141-155.
- Freyman J., Tsai P.-P., Stelzer H et Hackbarth H. (2017) The impact of bedding volumes on laboratory mice. *Applied Animal Behaviour Science* 186:72-79.
- Fullwood, S., Hicks T.A., Brown J.C., Norman R.L. et McGlone J.J. (1998) Floor space needs for laboratory mice: C57BL/6 males in solid-bottom cages with bedding. *Institute for Laboratory Animal Research Journal* 39(1):29-36.
- Gargiulo S., Greco A., Gramanzini M., Esposito S., Affuso A., Brunetti A. et Vesce G. (2012) Mice anesthesia, analgesia, and care, part I: Anesthetic considerations in preclinical research. *Institute for Laboratory Animal Research Journal* 53(1):E55-69.
- Garner J.P. (2005) Stereotypies and other abnormal repetitive behaviors: Potential impact on validity, reliability, and replicability of scientific outcomes. *Institute for Laboratory Animal Research Journal* 46(2):106-117.
- Garner J.P. et Mason G.J. (2002) Evidence for a relationship between cage stereotypies and behavioural disinhibition in laboratory rodents. *Behavioural Brain Research* 136(1):83-92.
- Garner J.P., Thogerson C.M., Würbel H., Murray J.D. et Mench J.A. (2006) Animal neuropsychology: Validation of the intra-dimensional extra-dimensional set shifting task for mice. *Behavioural Brain Research* 173(1):53-61.
- Garner J.P., Weisker S.M., Dufour B. et Mench J.A. (2004a) Barbering (fur and whisker trimming) by laboratory mice as a model of human trichotillomania and obsessive-compulsive spectrum disorders. *Comparative Medicine* 54(2):216-224.
- Garner J.P., Dufour B., Gregg L.E., Weisker S.M. et Mench J.A. (2004b) Social and husbandry factors affecting the prevalence and severity of barbering ('whisker trimming') by laboratory mice. *Applied Animal Behaviour Science* 89(3):263-282.
- Garner J.P., Gaskill B.N. et Pritchett-Corning K.R. (2016) Two of a kind or a full house? Reproductive suppression and alloparenting in laboratory mice. *PLoS One* 11(5):e0154966.
- Gaskill B.N. (2014) Aggression in laboratory mice: Potential influences and how to manage it. *The Enrichment Record* 18:22-25.

- Gaskill B.N. et Garner J.P. (2017) Stressed out: Providing laboratory animals with behavioral control to reduce the physiological effects of stress. *Lab Animal (NY)* 46(4):142-145.
- Gaskill B.N., Gordon C.J., Pajor E.A., Lucas J.R., Davis J.K. et Garner J.P. (2012) Heat or insulation: Behavioral titration of mouse preference for warmth or access to a nest. *PLoS One* 7(3):e32799.
- Gaskill B.N., Gordon C.J., Pajor E.A., Lucas J.R., Davis J.K. et Garner J.P. (2013a) Impact of nesting material on mouse body temperature and physiology. *Physiology & Behavior* 110-111:87-95.
- Gaskill B.N., Winnicker C., Garner J.P. et Pritchett-Corning K.R. (2013b) The naked truth: Breeding performance in nude mice with and without nesting material. *Applied Animal Behaviour Science* 143(2-4):110-116.
- Gaskill B.N., Karas A.Z., Garner J.P. et Pritchett-Corning K.R. (2013c) Nest building as an indicator of health and welfare in laboratory mice. *Journal of Visualized Experiments* 82:51012.
- Gaskill B.N., Pritchett-Corning K.R., Gordon C.J., Pajor E.A., Lucas J.R., Davis, J.K. et Garner J.P. (2013d) Energy reallocation to breeding performance through improved nest building in laboratory mice. *PLoS One* 8(9):e74153.
- Gaskill B.N. et Pritchett-Corning K.R. (2016) Nest building as an indicator of illness in laboratory mice. *Applied Animal Behaviour Science* 180:140-146.
- Gaynor J.S. (2009) Definitions of terms describing pain (chapitre 4). Dans: *Handbook of Veterinary Pain Management*, 2^e éd. (Gaynor J.S. et Muir W.W, éd.). St. Louis MO: Mosby Elsevier, pp. 57-59.
- Goodrich B.S., Gambale S., Pennycuik P.R. et Redhead T.D. (1986) Behavioral function and chemistry of volatiles from feces and anal secretions of house mice, *Mus musculus* – A preliminary report. Dans: *Chemical Signals in Vertebrates 4* (Duvall D., Müller-Schwarze D. et Silverstein R.M., éd.), New York NY: Plenum Press, p. 87-97.
- Gordon A. et Wyatt J. (2011) The water delivery system affects the rate of weight gain in C57BL/6J mice during the first week after weaning. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 50(1):37-40.
- Gordon C.J. (1993) *Temperature Regulation in Laboratory Rodents*. Cambridge ME: Cambridge University Press.
- Gordon C.J. (2004) Effect of cage bedding on temperature regulation and metabolism of group-housed female mice. *Comparative Medicine* 54(1):63-68.
- Gordon C.J. (2012) Thermal physiology of laboratory mice: Defining thermoneutrality. *Journal of Thermal Biology* 37(8):654-685.
- Gordon C.J., Becker P. et Ali J.S. (1998) Behavioral thermoregulatory responses of single- and group-housed mice. *Physiology & Behavior* 65(2):255-262.
- Gouveia K. et Hurst J.L. (2013) Reducing mouse anxiety during handling: Effect of experience with handling tunnels. *PLoS One* 8(6):e66401.
- Gray S. et Hurst J.L. (1995) The effects of cage cleaning on aggression within groups of male laboratory mice. *Animal Behaviour* 49(3):821-826.
- Gray S.J., Plesner Jensen S. et Hurst J.L. (2000) Structural complexity of territories: Preference, use of space and defence in commensal house mice, *Mus domesticus*. *Animal Behaviour* 60:765-772.

- Green A.R., Wathes C.M., Demmers T.G.M., MacArthur Clark J. et Xin H. (2008) Development and application of a novel environmental preference chamber for assessing responses of laboratory mice to atmospheric ammonia. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 47(2):49-56.
- Green M.A., Bass S. et Spear B. (2009) A device for the simple and rapid transcervical transfer of mouse embryos eliminates the need for surgery and potential post-operative complications. *Biotechniques* 47(5):919-924.
- Greenberg G. (1972) The effects of ambient temperature and population density on aggression in two inbred strains of mice, *Mus musculus*. *Behaviour* 42:119-130.
- Greenman D.L., Bryant P., Kodell R.L. et Sheldon W. (1982) Influence of cage shelf level on retinal atrophy in mice. *Laboratory Animal Science* 32(4):353-356.
- Gross A.N., Richter S.H., Engel A.K. et Würbel H. (2012) Cage-induced stereotypies, perseveration and the effects of environmental enrichment in laboratory mice. *Behavioural Brain Research* 234(1):61-68.
- Hampshire V. et Davis J.A. (2005) The role of the veterinary staff in mouse breeding colony management. *Laboratory Animal* 34(4):45-49.
- Hankenson F.C., Braden-Weiss G.C. et Blendy J.A. (2011) Behavioral and activity assessment of laboratory mice (*Mus musculus*) after tail biopsy under isoflurane anesthesia. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 50(5):686-694.
- Hankenson F.C., Garzel L.M., Fischer D.D., Nolan B. et Hankenson K.D. (2008) Evaluation of tail biopsy collection in laboratory mice (*Mus musculus*): Vertebral ossification, DNA quantity, and acute behavioral responses. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 47(6):10-18.
- Harkness J.E., Turner P.V., VandeWoude S. et Wheler C.L. (2010) *Harkness and Wagner's Biology and Medicine of Rabbits and Rodents*, 5^e éd. Ames IO: Wiley-Blackwell.
- Harrison D.J. (2001) Controlling exposure to laboratory animal allergens. *Institute for Laboratory Animal Research Journal* 42(1):17-36.
- Hawkins P., Morton D.B., Burman O., Dennison N., Honess P., Jennings M., Lane S., Middleton V., Roughan J.V., Wells S. et Westwood K. (2011) A guide to defining and implementing protocols for the welfare assessment of laboratory animals: Eleventh report of the BVA/AFW/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working Group on Refinement. *Laboratory Animals* 45(1):1-13.
- Hawkins P., Prescott M.J., Carbone L., Dennison N., Johnson C., Makowska J., Marquardt N., Readman G., Weary D.M. et Golledge H.D.R. (2016) A good death? Report of the second Newcastle meeting on laboratory animal euthanasia. *Animals* 6(9):50.
- Hayashimoto N., Ueno M., Takakura A. et Itoh T. (2007) A specific polymerase chain reaction based on the gyrB gene sequence and subsequent restriction fragment length polymorphism analysis of *Pasteurella pneumotropica* isolates from laboratory mice. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 46(2):54-58.
- Hayes A.W. and Kruger C.L. (2014) *Principles and Methods of Toxicology*, 6^e éd. Boca Raton FL: CRC Press.
- Healy J.R., Tonkin J.L., Kamarec S.R., Saludes M.A., Ibrahim S.Y., Matsumoto R.R. et Wimsatt J.H. (2014) Evaluation of an improved sustained-release buprenorphine formulation for use in mice. *American Journal of Veterinary Research* 75(7):619-625.

- Heffner H.E et Heffner R.S. (2007) Hearing ranges of laboratory animals. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 46(1):20-22.
- Helppi J., Schreier D., Naumann R. et Zierau O. (2015) Mouse reproductive fitness is maintained up to an ambient temperature of 28 °C when housed in individually-ventilated cages. *Laboratory Animals* 50(4):254-256.
- Henderson K.S., Perkins C.L., Havens R.B., Kelly M.J., Francis B.C., Dole V.S. et Shek W.R. (2013) Efficacy of direct detection of pathogens in naturally infected mice by using a high-density PCR array. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 52(6):763-772.
- Héon H., Rousseau N., Montgomery J., Beauguard G. et Choinière M. (2006) Establishment of an operating room committee and a training program to improve aseptic techniques for rodent and large animal surgery. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 45(6):58-62.
- Hess S.E., Rohr S., Dufour B.D., Gaskill B.N., Pajor E.A. et Garner J.P. (2008) Home improvement: C57BL/6J mice given more naturalistic nesting materials build better nests. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 47(6):25-31.
- Hessler J.R. et Leary S.L. (2002) Design and management of animal facilities. Dans: *Laboratory Animal Medicine*, 2^e éd. (Fox J.G., Anderson L.C., Loew F.M. et Quimby F.W., éd.). San Diego CA: Academic Press, Elsevier Science, chapitre 21, p. 909-948.
- Hetherington C.M., Doe B. et Hay D. (2000) Mouse care and husbandry. Dans: *Mouse Genetics and Transgenics: A Practical Approach* (Jackson I.J. et Abbott C.M., éd.) New York NY: Oxford University Press, p. 1-25.
- Hickman D.L. et Swan M.P. (2011) Effects of age of pups and removal of existing litter on pup survival during cross-fostering between multiparous outbred mice. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 50(5):641-646.
- Hildebrandt I.J., Su H. et Weber W.A. (2008) Anesthesia and other considerations for in vivo imaging of small animals. *Institute for Laboratory Animal Research Journal* 49(1):17-26.
- Hillhouse E.E., Collin R., Chabot-Roy G., Guyon M.J., Tessier N., Boulay M., Lis court P. et Lesage S. (2013) Nearby construction impedes the progression to overt autoimmune diabetes in NOD mice. *Journal of Diabetes Research* 2013:62031.
- Hofstetter J.R., Hofstetter A.R., Hughes A.M. et Mayeda A.R. (2005) Intermittent long-wavelength red light increases the period of daily locomotor activity in mice. *Journal of Circadian Rhythms* 3:8.
- Hoggatt A.F., Hoggatt J., Honerlaw M. et Pelus L.M. (2010) A spoonful of sugar helps the medicine go down: A novel technique to improve oral gavage in mice. *Journal of the American Association of Laboratory Animals Science* 49(3):329-334.
- Hoggatt J., Hoggatt A.F., Tate T.A., Fortman J. et Pelus L.M. (2016) Bleeding the laboratory mouse: Not all methods are equal. *Experimental Hematology* 44(2):132-137.
- Hoogenkamp H. et Lewing P. (1982) Superovulation in mice in relation to their age. *Veterinary Quarterly* 4(1):47-48.
- Hoppe C.C., Moritz K.M., Fitzgerald S.M., Bertram J.F. et Evans R.G. (2009) Transient hypertension and sustained tachycardia in mice housed individually in metabolism cages. *Physiological Research* 58(1):69-75.

- Howdeshell K.L., Peterman P.H., Judy B.M., Taylor J.A., Orazio C.E., Ruhlen R.L., Vom Saal F.S. et Welshons W.V. (2003) Bisphenol A is released from used polycarbonate animal cages into water at room temperature. *Environmental Health Perspectives* 111(9):1180-1187.
- Howerton C.L., Garner J.P. et Mench J.A. (2008) Effects of a running wheel-igloo enrichment on aggression, hierarchy linearity, and stereotypy in group-housed male CD-1 (ICR) mice. *Applied Animal Behaviour Science* 115(1-2):90-103.
- Hunt C. et Hambly C. (2006) Faecal corticosterone concentrations indicate that separately housed male mice are not more stressed than group housed males. *Physiology & Behavior* 87(3):519-526.
- Hurst J. (2005) [*Making sense of scents: Reducing aggression and uncontrolled variation in laboratory mice.*](#) Online publication of the National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research (NC3Rs) (consulté le 2019-07-26).
- Hurst K. et Litwak K.N. (2012) Accelerative forces associated with routine inhouse transportation of rodent cages. *Journal of the American Association of Laboratory Animals Science* 51(5):544-547.
- Hurst J.L et West R.S. (2010) Taming anxiety in laboratory mice. *Nature Methods* 7(10):825-826.
- Huss M.K., Chum H.H., Chang A.G., Jampachairsi K. et Pacharinsak C. (2016) The physiologic effects of isoflurane, sevoflurane, and hypothermia used for anesthesia in neonatal rats (*Rattus norvegicus*). *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 55(1):83-88.
- Hutchinson E., Avery A. et Vandewoude S. (2005) Environmental enrichment for laboratory rodents. *Institute for Laboratory Animal Research Journal* 46(2):148-161.
- Hylander B.L. et Repasky E.A. (2016) Thermoneutrality, mice, and cancer: A heated opinion. *Trends in Cancer* 2(4):166-175.
- Ilkiw J.E. (1999) Balanced anesthetic techniques in dogs and cats. *Clinical Techniques in Small Animal Practice* 14(1):27-37.
- Institute for Laboratory Animal Research – ILAR (2006) *Guidelines for the Humane Transportation of Research Animals*. Washington DC: National Academies Press.
- Instituts de recherche en santé du Canada – IRSC (2015) [*Recherche préclinique : faut-il tenir compte du sexe?*](#) *Science ou science-fiction* 6 (consulté le 2019-07-26).
- Irwin J., Ahluwalia P., Zacharko R.M. et Anisman H. (1986) Central norepinephrine and plasma corticosterone following acute and chronic stressors: Influence of social isolation and handling. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 24(4):1151-1154.
- Izer J.M., Whitcomb T.L. et Wilson R.P. (2014) Atipamezole reverses ketamine-dexmedetomidine anesthesia without altering the antinociceptive effects of butorphanol and buprenorphine in female C57BL/6J mice. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 53(6):675-683.
- Jaber S.M., Hankenson F.C., Heng K., McKinstry-Wu A., Kelz M.B. et Marx J.O. (2014) Dose regimens, variability, and complications associated with using repeat-bolus dosing to extend a surgical plane of anesthesia in laboratory mice. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 53(6):684-691.
- Janus L.M. et Bleich A. (2012) Coping with parvovirus infections in mice: Health surveillance and control. *Laboratory Animals* 46(1):14-23.

- Jennings M., Batchelor G.R., Brain P.F., Dick A., Elliott H., Francis R.J., Hubrecht R.C., Hurst J.L., Morton D.B., Peters A.G., Raymond R., Sales G.D., Sherwin C.M. et West C. (1998) Refining rodent husbandry: The mouse. Report of the Rodent Refinement Working Party. *Laboratory Animals* 32(3):233-259.
- Jensen K., Hahn N.E., Palme R., Saxton K. et Francis D.D. (2010) Vacuum-cleaner noise and acute stress responses in female C57BL/6 mice (*Mus musculus*). *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 49(3):300-306.
- Jensen E.S., Allen K.P., Henderson K.S., Szabo A. et Thulin J.D. (2013a) PCR testing of a ventilated caging system to detect murine fur mites. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 52(1):28-33.
- Jensen T.L., Kiersgaard M.K., Sørensen D.B. et Mikkelsen L.F. (2013b) Fasting of mice: A review. *Laboratory Animals* 47(4):225-240.
- Jhaveri K.A., Trammell R.A. et Toth L.A. (2007) Effect of environmental temperature on sleep, locomotor activity, core body temperature and immune responses of C57BL/6J mice. *Brain, Behavior and Immunity* 21(7):975-987.
- Jiang Z., Liu Y., Wan C., Yang B., Guo L., Wang Y., Wang Y., Zhou W., Liu Y. et Wang Z. (2006) Different light-dark cycles affect growth rate and food intake of mice. *Biological Rhythm Research* 37(1):11-19.
- Jirkof P. (2017) Side effects of pain and analgesia in animal experimentation. *Lab Animal (NY)* 46(4): 123-128.
- Jirkof P. (2015) Effects of experimental housing conditions on recovery of laboratory mice. *Lab Animal (NY)* 44(2):65-70.
- Jirkof P. (2014) Burrowing and nest building behavior as indicators of well-being in mice. *Journal of Neuroscience Methods* 234:139-146.
- Jirkof P., Leucht K., Cesarovic N., Caj M., Nicholls F., Rogler G., Arras M. et Hausmann M. (2013) Burrowing is a sensitive behavioural assay for monitoring general wellbeing during dextran sulfate sodium colitis in laboratory mice. *Laboratory Animals* 47(4):274-283.
- Johnson J.S., Taylor D.J., Green A.R. et Gaskill B.N. (2017) Effects of nesting material on energy homeostasis in BALB/cAnNCrl, C57BL/6NCrl, and Crl:CD1(ICR) mice housed at 20 °C. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 56(3):254-259.
- Jones C.P., Carver S. et Kendall L.V. (2012) Evaluation of common anesthetic and analgesic techniques for tail biopsy in mice. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 51(6):808-814.
- Kalliokoski O., Jacobsen K.R., Darusman H.S., Henriksen T., Weimann A., Poulsen H.E., Hau J. et Abelson K.S.P. (2013) Mice do not habituate to metabolism cage housing – A three week study of male BALB/c mice. *PLoS One* 8(3):e58460.
- Kalliokoski O., Teilmann A.C., Jacobsen K.R., Abelson K.S.P. et Hau J. (2014) The lonely mouse – Single housing affects serotonergic signaling integrity measured by 8-OH-DPAT-induced hypothermia in male mice. *PLoS One* 9(12):e111065.
- Kappel S., Hawkins P. et Mendl M.T. (2017) To group or not to group? Good practice for housing male laboratory mice. *Animals (Basel)* 7(12):piiE88.

- Karlsson E.M., Pearson L.M., Kuzma K.M. et Burkholder T.H. (2014) Combined evaluation of commonly used techniques, including PCR, for diagnosis of mouse fur mites. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 53(1):69-73.
- Kastenmayer R.J., Fain M.A. et Perdue K.A. (2006) A retrospective study of idiopathic ulcerative dermatitis in mice with a C57BL/6 background. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 45(6):8-12.
- Kercmar J., Tobet S.A. et Majdic G. (2014) Social isolation during puberty affects female sexual behavior in mice. *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 8:337.
- Khoo S.Y., Lay B.P.P., Joya J. et McNally G.P. (2018) Local anaesthetic refinement of pentobarbital euthanasia reduces abdominal writhing without affecting immunohistochemical endpoints in rats. *Laboratory Animals* 52(2):152-162.
- Kikusui T., Isaka Y. et Mori Y. (2005) Early weaning deprives mouse pups of maternal care and decreases their maternal behavior in adulthood. *Behavioural Brain Research* 162(2):200-206.
- Kiselycznyk C. et Holmes A. (2011) All (C57BL/6) mice are not created equal. *Frontiers in Neuroscience* 5:10.
- Koehler K.E., Voight R.C., Thomas S., Lamb B., Urban C., Hassold T. et Hunt P.A. (2003) When disaster strikes: Rethinking caging materials. *Laboratory Animal* 32(4):24-27.
- Kohn D.F., Martin T. E., Foley P. L., Morris T.H., Swindle M.M., Vogler G.A. et Wixson S.K. (2007) Public statement: Guidelines for the assessment and management of pain in rodents and rabbits. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 46(2):97-108.
- Koike H., Ibi D., Mizoguchi H., Nagai T., Nitta A., Takuma K., Nabeshima T., Yoneda Y. et Yamada K. (2009) Behavioral abnormality and pharmacologic response in social isolation-reared mice. *Behavioural Brain Research* 202(1):114-121.
- Kolaczowska E., Chadzinska M., Seljelid R. et Plytycz B. (2001) Strain differences in some immune parameters can be obscured by circadian variations and laboratory routines: Studies of male C57BL/6J, Balb/c and CB6 F1 mice. *Laboratory Animals* 35(1):91-100.
- Konno K., Itano N., Ogawa T., Hatakeyama M., Shioya K. et Kasai N. (2014) New visible endotracheal intubation method using the endoscope system for mice inhalational anesthesia. *The Journal of Veterinary Medical Science* 76(6):863-868.
- Kostomitsopoulos N., Alexakos P., Eleni K., Doulou A., Paschidis K. et Baumans V. (2012) The effects of different types of individually ventilated caging systems on growing male mice. *Laboratory Animals* 41(7):192-197.
- Kramer K., van de Weerd H., Mulder A., Van Heijningen C., Baumans V., Remie R., Voss H.P. et van Zutphen B.F. (2004) Effect of conditioning on the increase of heart rate and body temperature provoked by handling in the mouse. *Alternatives to Laboratory Animals* 32(Suppl. 1A):177-181.
- Krohn T.C. et Hansen A.K. (2010) Mice prefer draught-free housing. *Laboratory Animals* 44(4):370-372.
- Kurien B.T., Everds N.E. et Scofield R.H. (2004) Experimental animal urine collection: A review. *Laboratory Animals* 38(4):333-361.

- Kurien B.T. et Scofield R.H. (1999) Mouse urine collection using clear plastic wrap. *Laboratory Animals* 33(1):83-86.
- Kuse Y., Ogawa K., Tsuruma K., Shimazawa M. et Hara H. (2014) Damage of photoreceptor-derived cells in culture induced by light emitting diode-derived blue light. *Science Reports* 4:5223.
- Langford D.J., Bailey A.L., Chanda M.L., Clarke S.E., Drummond T.E., Echols S., Glick S., Ingrao J., Klassen-Ross T., Lacroix-Fralish M.L., Matsumiya L., Sorge R.E., Sotocinal S.G., Tabaka J.M., Wong D., van den Maagdenberg A.M., Ferrari M.D., Craig K.D. et Mogil J.S. (2010) Coding of facial expressions of pain in the laboratory mouse. *Nature Methods* 7(6):447-449.
- Latham N. et Mason G.E. (2004) From house mouse to mouse house: The behavioural biology of free-living *Mus musculus* and its implications in the laboratory. *Applied Animal Behaviour Science* 86(3-4):261-289.
- Lauer A.M., May B.J., Hao Z.J. et Watson J. (2009) Sound levels in modern rodent housing rooms are an uncontrolled environmental variable with fluctuations mainly due to human activities. *Lab Animal (NY)* 38(5): 154-160.
- Laukens D., Brinkman B.M., Raes J., De Vos M. et Vandenabeele P. (2016) [Heterogeneity of the gut microbiome in mice: Guidelines for optimizing experimental design](#). *FEMS Microbiology Reviews* 40(1):117-132 (accessed on 2019-06-19).
- LaVail M.M., Gorrin G.M. et Repaci M.A. (1987) Strain differences in sensitivity to light-induced photoreceptor degeneration in albino mice. *Current Eye Research* 6(6):825-834.
- Leach M.C., Ambrose N., Bowell V.J. et Morton D.B. (2000) The development of a novel form of mouse cage enrichment. *Journal of Applied Animal Welfare Science* 3(2):81-91.
- Leach M.C., Bowell V.A., Allan T.F. et Morton D.B. (2002) Aversion to gaseous euthanasia agents in rats and mice. *Comparative Medicine* 52(3):249-257.
- Leach M.C., Bowell V.A., Allan T.F. et Morton D.B. (2004) Measurement of aversion to determine humane methods of anaesthesia and euthanasia. *Animal Welfare* 13(Suppl. 1):77-86.
- Leach M.C., Klaus K., Miller A.L., Scotto di Perrotolo M., Sotocinal S.G. et Flecknell P.A. (2012) The assessment of post-vasectomy pain in mice using behaviour and the Mouse Grimace Scale. *PLoS One* 7(4):e35656.
- Leach M.C., Thornton P.D. et Main D.C.J. (2008) Identification of appropriate measures for the assessment of laboratory mouse welfare. *Animal Welfare* 17(2):161-170.
- Leblanc M., Berry K., Graciano S., Becker B. et Reuter J.D. (2014) False-positive results after environmental pinworm PCR testing due to rhabditid nematodes in corncob bedding. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 53(6):717-724.
- Lehmann M.L. et Herkenham M. (2011) Environmental enrichment confers stress resiliency to social defeat through an infralimbic cortex-dependent neuroanatomical pathway. *Journal of Neuroscience* 31(16): 6159-6173.
- Leitgeb R.A. (2007) Optical coherence tomography – High resolution imaging of structure and function. *Conference Proceedings IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*. Lyon, France, 22 au 26 août 2007, p. 530-532.

- Lerch S., Dormann C., Brandwein C., Gass P. et Chourbaji S. (2016) The scent of stress: Environmental challenge in the peripartum environment of mice affects emotional behaviours of the adult offspring in a sex-specific manner. *Laboratory Animals* 50(3):167-178.
- Lidster K., Jeffreys J.G., Blumcke I., Cruelli V., Flecknell P., Frenguelli B.G., Gray W.P., Kaminski R., Pitkanen A., Ragan I., Shah M., Simponato M., Trevelyan A., Volk H., Walker M., Yates N. et Prescott M.J. (2016) Opportunities for improving animal welfare in rodent models of epilepsy and seizures. *Journal of Neuroscience Methods* 260:2-25.
- Linder C.C. (2003) Mouse nomenclature and maintenance of genetically engineered mice. *Comparative Medicine* 53(2):119-125.
- Lindstrom K.E., Henderson K.S., Mayorga M.S., Kuiper V.A. et Wilkerson J.D. (2018) Contaminated shipping materials identified as the source of rotaviral infection of exported mice. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 57(5):529-533.
- Lipman N.S. et Perkins S.E. (2002) Factors that may affect animal research (chapitre 29). Dans: *Laboratory Animal Medicine*, 2^e éd. (Fox J.G., Anderson L.C., Loew F.M. et Quimby F.W., éd.). San Diego CA: Academic Press, Elsevier Science, p.1143-1165.
- Lofgren J.L., Esmail M., Mobley M., McCabe A., Taylor N.S., Shen Z., Erdman S., Hewes C., Whary M.T. et Fox J.G. (2012) Prevalence of murine *Helicobacter spp.* infection is reduced by restocking research colonies with *Helicobacter*-free mice. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 51(4):436-442.
- Loh D.L., Navarro J. Hagopian A., Wang L.M., Deboer T. et Colwell C.S. (2010) Rapid changes in the light/dark cycle disrupt memory of conditioned fear in mice. *PLoS One* 5(9): e12546.
- Lonetti G., Angelucci A., Morando L., Boggio E.M., Giustetto M. et Pizzorusso T. (2010) Early environmental enrichment moderates the behavioral and synaptic phenotype of MeCP2 null mice. *Biological Psychiatry* 67(7):657-665.
- Luo C., Zuñiga J., Edison E., Palla S., Dong W. et Parker-Thornburg J. (2011) Superovulation strategies for 6 commonly used mouse strains. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 50(4):471-478.
- MacDonald K.D., Chang H.Y. et Mitzner W. (2009) An improved simple method of mouse lung intubation. *Journal of Applied Physiology* 106(3):984-987.
- Mahabir E., Bulian D., Needham J. et Schmidt J. (2009) Lack of transmission of mouse minute virus (MMV) from in vitro-produced embryos to recipients and pups due to the presence of cumulus cells during the in vitro fertilization process. *Biology of Reproduction* 81(3):531-538.
- Mähler M., Berard M., Feinstein R., Gallagher A., Illgen-Wilcke B., Pritchett-Corning K. et Raspa M. (2014) FELASA recommendations for the health monitoring of mouse, rat, hamster, guinea pig and rabbit colonies in breeding and experimental units. *Laboratory Animals* 48(3):178-192.
- Makowska I.J., Vickers L., Mancell J. et Weary D.M. (2009) Evaluating methods of gas euthanasia for laboratory mice. *Applied Animal Behaviour Science* 121(3-4):230-235.
- Marx J.O., Brice A.K., Boston R.C. et Smith A.L. (2013) Incidence rates of spontaneous disease in laboratory mice used at a large biomedical research institution. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 52(6):782-779.

- Mason G.J. et Latham N.R. (2004) Can't stop, won't stop: Is stereotypy a reliable animal welfare indicator? *Animal Welfare* 13(Suppl. 1):57-69.
- Mason G., Clubb R., Latham N. et Vickery S. (2007) Why and how should we use environmental enrichment to tackle stereotypic behaviour? *Applied Animal Behaviour Science* 102(3-4):163-188.
- Matsumiya L.C., Sorge R.E., Sotocinal S.G., Tabaka J.M., Wieskopf J.S., Zaloum A., King O. D. et Mogil J.S. (2012) Using the Mouse Grimace Scale to reevaluate the efficacy of postoperative analgesics in laboratory mice. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 51(1):42-49.
- McCarthy M.M., Arnold A.P., Ball G.F., Blaustein J.D. et De Vries G.J. (2012) [Sex differences in the brain: The not so inconvenient truth](#). *Journal of Neuroscience* 32(7):2241-2247 (accessed on 2019-06-19).
- McGlone J.J., Anderson D.L. et Norman R.L. (2001) Floor space needs for laboratory mice: BALB/cJ males or females in solid-bottom cages with bedding. *Contemporary Topics in Laboratory Animal Science* 40(3):21-25.
- McLennan I.S. et Taylor-Jeffs J. (2004) The use of sodium lamps to brightly illuminate mouse houses during their dark phases. *Laboratory Animals* 38(4):384-392.
- Mella J.R., Chiswick E.L., King E. et Remick D.G. (2014) Location, location, location: Cytokine concentrations are dependent on blood sampling site. *Shock* 42(4):337-342.
- Memarzadeh F. (2005) Control of ammonia production in animal research facilities through ventilation system design. *American Society of Heating, Refrigeration and Air-Conditioning Engineers* 111:203-212.
- Mexas A.M., Brice A.K., Caro A.C., Hillanbrand T.S. et Gaertner D.J. (2015) Nasal histopathology and intracage ammonia levels in female groups and breeding mice housed in static isolation cages. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 54(5):478-486.
- Miller A.L. et Leach M.C. (2015) The mouse grimace scale: A clinically useful tool? *PLoS One* 10(9):e0136000.
- Miller A.L., Wright-Williams S.L., Flecknell P.A. et Roughan J. (2012) A comparison of abdominal and scrotal approach methods of vasectomy and the influence of analgesic treatment in laboratory mice. *Laboratory Animals* 46(4):304-310.
- Mochida K., Hasegawa A., Taguma K., Yoshiki A. et Ogura A. (2011). Cryopreservation of mouse embryos by ethylene glycol-based vitrification. *Journal of Visualized Experiments* (57):e3155.
- Mogil J.S. (2017) Laboratory environmental factors and pain behavior: The relevance of unknown unknowns to reproducibility and translation. *Lab Animal (NY)* 46(4):136-141.
- Molina-Cimadevila M.J., Segura S., Merino C., Ruiz-Reig N., Andrés B. et de Madaria E. (2014) Oral self-administration of buprenorphine in the diet for analgesia in mice. *Laboratory Animals* 48(3):216-224.
- Moody C.M. et Weary D.M. (2014) Mouse aversion to isoflurane versus carbon dioxide gas. *Applied Animal Behaviour Science* 158:95-101.
- Moody C.M., Chua B. et Weary D.M. (2014) The effect of carbon dioxide flow rate on the euthanasia of laboratory mice. *Laboratory Animals* 48(4):298-304.
- Morton D.B., Abbot D., Barclay R., Close B.S., Ewbank R., Gask D., Heath M., Mattic S., Poole T., Seamer J., Southee J., Thompson A., Trussell B., West C. et Jennings M. (1993) Removal of blood from laboratory mammals and birds. First Report of the BVA/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working Group on Refinement. *Laboratory Animals* 27(1):1-22.

- Morton D.B., Hawkins P., Bevan R., Heath K., Kirkwood J., Pearce P., Scott L., Whelan G. et Webb A. (2003) Refinements in telemetry procedures. Seventh Report of the BVAAWF/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working Group on Refinement, Part A. *Laboratory Animals* 37(4):261-299.
- Morton C.B., Jennings M., Buckwell A., Ewbank R., Godfrey C., Holgate B., Inglis I., James R., Page C., Sharman I., Verschoyle R., Westall L. et Wilson A.B. (2001) Refining procedures for the administration of substances. Third Report of the BVA-AWF/FRAME/RSPCA /UFAW Joint Working Group on Refinement. *Laboratory Animals* 35(1):1-41.
- Mouse Genome Informatics – MGI (2013) [Guidelines for Nomenclature of Mouse and Rat Strains](#) (consulté le 2019-07-26).
- Mouse Welfare Terms (2017) <http://mousewelfareterms.org> (consulté le 2019-06-19)
- Moynihan J., Koota D., Brenner G., Cohen N. et Ader R. (1989) Repeated intraperitoneal injections of saline attenuate the antibody response to a subsequent intraperitoneal injection of antigen. *Brain, Behavior and Immunology* 3(1):90-96.
- Murray K.A. et Parker N.J. (2005) Breeding genetically modified rodents: Tips for tracking and troubleshooting reproductive performance. *Laboratory Animal* 34(4):36-41.
- Murray S.A., Morgan J.L., Kane C., Sharma Y., Heffner C.S., Lake J. et Donahue L.R. (2010) Mouse gestation length is genetically determined. *PLoS One* 5:e12418.
- Naff K.A., Riva C.M., Craig S.L. et Gray K.N. (2007) Noise produced by vacuuming exceeds the hearing thresholds of C57Bl/6 and CD1 mice. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 46(1):52-57.
- Nagy A.N., Perrimon S.S. et Plasterk R. (2003) Tailoring the genome: The power of genetic approaches. *Nature Genetics* 33:276-284.
- Nary T.R., Krzywanski D., Li J., Meleth S. et Desmond R. (2002) Effect of group vs. single housing on phenotypic variance in C57BL/6J mice. *Obesity Research* 10(5):412-415.
- National Research Council – NRC (1995) [Nutrient requirements of the mouse](#) (chapitre 3). Dans: *Nutrient Requirements of Laboratory Animals*, 4^e éd. Washington DC: National Academy Press (consulté le 2019-07-26).
- National Research Council – NRC (2003) *Guidelines for the Care and Use of Mammals in Neuroscience and Behavioral Research*. Washington DC: National Academies Press.
- Natoli R., Jiao H., Barnett N.L., Fernando N., Valter K., Provis J.M. et Rutar M. (2016) A model of progressive photo-oxidative degeneration and inflammation in the pigmented C57BL/6J mouse retina. *Experimental Eye Research* 147:114-127.
- Neilan C.L., King M.A., Rossi G., Ansonoff M., Pintar J.E., Schiller P.W. et Pasternak G.W. (2003) Differential sensitivities of mouse strains to morphine and [Dmt1] DALDA analgesia. *Brain Research* 974(1-2):254-257.
- Nemzek J.A., Bolgos G.L., Williams B.A. et Remick D.G. (2001) Differences in normal values for murine white bloodcell counts and other hematological parameters based on sampling site. *Inflammation Research* 50(10):523-527.
- Nevison C.M., Barnard C.J., Beynon R.J. et Hurst J.L. (2000) The consequences of inbreeding for recognizing competitors. *Proceedings Biological Sciences/The Royal Society* 267(1444):687-694.

- Nicholson A., Malcolm R.D., Russ P.L., Cough K., Touma C., Palme R. et Wiles M.V. (2009) The response of C57BL/6J and BALB/cJ mice to increased housing density. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 48(6):740-753.
- Nomura T. et Yonezawa K. (1996) A comparison of four systems of group mating for avoiding inbreeding. *Genetics Selection Evolution* 28(2):141-159.
- Norton J.N., Kinard W.L. et Reynolds R.P. (2011) [Comparative vibration levels perceived among species in a laboratory animal facility](#). *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 50(5):653-659 (consulté le 2019-07-26).
- Norwegian Consensus Platform for Replacement Reduction and Refinement of Animal Experiments – Norecopa (2008) [Toe clipping in mice: An evaluation of the method and alternatives](#). Oslo, Norway:1-18 (consulté le 2019-07-26).
- Nunamaker E.A., Anderson R.J., Artwohl J.E., Lyubimov A.V. et Fortman J.D. (2013) Predictive observation-based endpoint criteria for mice receiving total body irradiation. *Comparative Medicine* 63(4):313-322.
- Obernier J.A. et Baldwin, R.L. (2006) Establishing an appropriate period of acclimatization following transportation of laboratory animals. *Institute of Laboratory Animal Research Journal* 47(4):364-369.
- Ohlemiller K.K., McFadden S.L., Ding D.L., Lear P.M. et Ho Y.S. (2000) Targeted mutation of the gene for cellular glutathione peroxidase (Gpx1) increases noise-induced hearing loss in mice. *Journal of the Association for Research in Otolaryngology* 1(3):243-254.
- Olsson I.A. et Dahlborn K. (2002) Improving housing conditions for laboratory mice: A review of “environmental enrichment”. *Laboratory Animals* 36(3):243-270.
- Olsson I.A., Nevison C.M., Patterson-Kane E.G., Sherwin C.M., Van de Weerd H.A. et Würbel H. (2003) Understanding behaviour: The relevance of ethological approaches in laboratory animal science. *Applied Animal Behaviour Science* 81(3):245-264.
- Olsson I.A. et Sherwin C.M. (2006) Behaviour of laboratory mice in different housing conditions when allowed to self-administer an anxiolytic. *Laboratory Animals* 40(4):392-399.
- Organisciak D.T. et Vaughan D.K. (2010) Retinal light damage: Mechanisms and protection. *Progress in Retinal and Eye Research* 29(2):113-134.
- Otaño-Rivera V., Boake A., Grobe N., Almutairi M.M., Kursan S., Mattis L.K., Castrop H., Elased K.M., Boivin G.P. et Di Fulvio M. (2017) A highly efficient strategy to determine genotypes of genetically-engineered mice using genomic DNA purified from hair roots. *Laboratory Animals* 51(2):138-146.
- Overton J.M. et Williams T.D. (2004) Behavioural and physiologic responses to caloric restriction in mice. *Physiology & Behavior* 81(5):749-754.
- Palmberg L., Sundblad B.M., Lindberg A., Kupczyk M., Sahlander K. et Larsson K. (2015) Long term effect and allergic sensitization in newly employed workers in laboratory animal facilities. *Respiratory Medicine* 109(9):1164-1173.
- Palou A., Remesar X., Arola L, Herrera E. et Alemany M. (1981) Metabolic effects of short term food deprivation in the rat. *Hormone and Metabolic Research* 13(6):326-330.

- Parasuraman S., Raveendran R. et Kesavan R. (2010) Blood sample collection in small laboratory animals. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics* 1(2):87-93.
- Paster E.V., Villines K.A. et Hickman D.L. (2009) Endpoints for mouse abdominal tumor models: Refinement of current criteria. *Comparative Medicine* 59(3):234-241.
- Peirson S.N., Brown L.A., Potheary C.A., Benson L.A. et Fisk A.S. (2018) Light and the laboratory mouse. *Journal of Neuroscience Methods* 300:26-36.
- Peters L.L., Robledo R.F., Bult C.J., Churchill G.A., Paigen B.J. et Svenson K.L. (2007) The mouse as a model for human biology: A resource guide for complex trait analysis. *Nature Review Genetics* 8(1):58-69.
- Peterson N.C. (2008) From bench to cageside: Risk assessment for rodent pathogen contamination of cells and biologics. *Institute of Laboratory Animal Science Journal* 49(3):310-315.
- Pietro Paolo S., Mintz M., Feldon J. et Yee B.K. (2007) The behavioral sequela following the prevention of home-cage grid-climbing activity in C57BL/6 mice. *Behavioral Neuroscience* 121(2):345-355.
- Pilorz V., Tam S.K.E., Hughes S., Potheary C.A., Jagannath A., Hankins M.W., Bannerman D.M., Lightman S.L., Vyazovskiy V.V., Nolan P.M., Forster R.G. et Peirson S.N. (2016) Melanopsin regulates both sleep-promoting and arousal-promoting responses to light. *PLoS Biology* 14(6):e1002482.
- Poole T. (1997) Happy animals make good science. *Laboratory Animals* 31(2):116-124.
- Porter G., Lane-Petter W. et Horne N. (1963) A comparison between transparent and opaque cages for breeding mice. *Journal of the Animal Technicians Association* 13:84-86.
- Portfors C.V. (2007) Types and functions of ultrasonic vocalizations in laboratory rats and mice. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 46(1):28-34.
- Prendergast B.J., Onishi K.G. et Zucker I. (2014) Female mice liberated for inclusion in neuroscience and biomedical research. *Neuroscience Biobehavioral Reviews* 40:1-5.
- Prins J.-B. (2011) Management of genetically modified rodents (chapitre 9). Dans: *The COST Manual of Laboratory Animal Care and Use* (Howard B., Nevalainen T. et Perretta G., éd.). Boca Raton FL: CRC Press, p.205-226.
- Pritchett K.R. (2007) Helminth parasites of laboratory mice. Dans: *The Mouse in Biomedical Research*, 2^e éd. (Fox J., Davisson M.T., Quimby F.W., Barthold S.W., Newcomer C.E. et Smith A.L., éd.). San Diego CA: Academic Press, p. 551-564.
- Pritchett-Corning K.R., Chou S., Conour L.A. et Elder B.J. (2011) *Guidebook on Mouse and Rat Colony Management*, 1^{ère} éd. Wilmington MA: Charles River.
- Pritchett-Corning K.R., Cosentino J. et Clifford C.B. (2009) Contemporary prevalence of infectious agents in laboratory mice and rats. *Laboratory Animals* 43(2):165-173.
- Pritchett-Corning K.R., Prins J.-B., Feinstein R., Goodwin J., Nicklas W. et Riley L. (2014) AALAS/FELASA Working Group on Health Monitoring of Rodents for Animal Transfer. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 53(6):633-640.
- Pritt S., Cozine K. et Warren H. (2006) Management of unanticipated outcomes in transgenic mouse facilities. *Laboratory Animals* 35(4):27-30.

- Rasmussen S., Glickman G., Norinsky R., Quimby F.W. et Tolwani R.J. (2009) Construction noise decreases reproductive efficiency in mice. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 48(4):363-370.
- Recordati C., Basta S.M., Benedetti L., Baldin F., Capillo M., Scanziani E. et Gobbi A. (2015) Pathologic and environmental studies provide new pathogenetic insights into ringtail of laboratory mice. *Veterinary Pathology* 52(4):700-711.
- Reeb C.K., Jones R.B., Bearg D.W., Bedigian H. et Paigen B. (1997) Impact of room ventilation rates on mouse cage ventilation and microenvironment. *Contemporary Topics in Laboratory Animal Science* 36(1):74-79.
- Reeb-Whitaker C.K., Paigen B., Beamer W.G., Bronson, R.T., Churchill, G.A., Schweitzer I.B. et Myers D.D. (2001) The impact of reduced frequency of cage changes on the health of mice housed in ventilated cages. *Laboratory Animals* 35(1):58-73.
- Rehg J. et Toth L. (1988) Rodent quarantine programs: Purpose, principles, and practice. *Laboratory Animal Science* 48(5):438-447.
- Reynolds R.P., Kinard W.L., Degraff J.J., Leverage N. et Norton J.N. (2010) Noise in a laboratory animal facility from the human and mouse perspectives. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 49(5):592-597.
- Reynolds R.P., Li Y., Garner A. et Norton J.N. (2018) [Vibration in mice: A review of comparative effects and use in translational research](#). *Animal Models and Experimental Medicine* 1(2):116-124 (consulté le 2019-07-26).
- Ricart Arbona R.J., Lipman N.S. et Wolf F.R. (2010) Treatment and eradication of murine fur mites: II. Diagnostic considerations. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 49(5):583-587.
- Richter S.H., Garner J.P. et Würbel H. (2009) Environmental standardization: Cure or casue of poor reproducibility in animal experiments? *Nature Methods* 6(4):257-261.
- Robinson V., Morton D.B., Anderson D., Carver J.F., Francis R.J., Hubrecht R., Jenkins E., Mathers K.E., Raymond R., Rosewell I., Wallace J. et Wells D.J. (2003) Refinement and reduction in production of genetically modified mice. *Laboratory Animals* 37(Suppl. 1):1-49.
- Rock M.L., Karas A.Z., Rodriguez K.B., Gallo M.S., Pritchett-Corning K., Karas R.H., Aronovitz M. et Gaskill B.N. (2014) The time-to-integrate-to-nest test as an indicator of wellbeing in laboratory mice. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 53(1):24-28.
- Rosenbaum M.D., VandeWoude S. et Johnson T.E. (2009) Effects of cage-change frequency and bedding volume on mice and their microenvironment. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 48(6):763-773.
- Rosenbaum, M.D., VandeWoude S., Volckens J. et Johnson T. (2010) Disparities in ammonia, temperature, humidity, and airborne particulate matter between the micro-and macroenvironments of mice in individually ventilated caging. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 49(2):177-183.
- Rozanowska M.B. (2012) Light-induced damage to the retina: Current understanding of the mechanisms and unresolved questions: A symposium-in-print. *Photochemistry and Photobiology* 88(6):1303-1308.
- Russell W.M.S. et Burch R.L. (1959) *The Principles of Humane Experimental Technique*. Londres R.-U.: Universitites Federation for Animal Welfare – UFAW (édition spéciale, 1992).

- Schaefer D.C., Asner I.N., Seifert B., Bürki K. et Cinelli P. (2010) Analysis of physiological and behavioural parameters in mice after toe clipping as newborns. *Laboratory Animals* 44(1):7-13
- Schnell M.A., Hardy C., Hawley M., Propert K.J. et Wilson J.M. (2002) Effect of blood collection technique in mice on clinical pathology parameters. *Human Gene Therapy* 13(1):155-161.
- Sellers R.S. (2017) Translating mouse models: Immune variation and efficacy testing. *Toxicologic Pathology* 45(1):134-145.
- Sharp J.L., Zammit T.G., Azar T.A. et Lawson D.M. (2002) Stress-like responses to common procedures in male rats housed alone or with other rats. *Contemporary Topics in Laboratory Animal Science* 41(4):8-14.
- Shek W.R. (2008) Role of housing modalities on management and surveillance strategies for adventitious agents of rodents. *Institute for Laboratory Animal Research Journal* 49(3):316-325.
- Shek W., Smith A. et Pritchett-Corning K. (2015) Microbiological quality control for laboratory rodents and lagomorphs. Dans: *Laboratory Animal Medicine*, 3^e éd. (Fox J., Anderson L., Otto G., Pritchett-Corning K. and Whary M., éd.). New York NY: Academic Press, chapter 11, p.463-510.
- Sherwin C.M. (1996a) Laboratory mice persist in gaining access to resources: A method of assessing the importance of environmental features. *Applied Animal Behaviour Science* 48(3):203-214.
- Sherwin C.M. (1996b) Preferences of individually housed TO strain laboratory mice for loose substrate or tubes for sleeping. *Laboratory Animals* 30(3):245-251.
- Sherwin C.M. (2002) Comfortable quarters for mice in research institutions. Dans: *Comfortable Quarters for Laboratory Animals*, 9^e éd. (Reinhardt V. et Reinhardt A., éd.). Washington DC: Animal Welfare Institute, p. 6-17.
- Skorupski A.M., Zhang J., Ferguson D., Lawrence F. et Hankenson F.C. (2017) Quantification of induced hypothermia from aseptic scrub applications during rodent surgery preparation. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 56(5):562-569.
- Silverman J.D., Bays D.W. et Baker S.P. (2009) Ammonia and carbon dioxide concentrations in disposable and reusable static mouse cages. *Laboratory Animals* 38(1):16-23.
- Sluyter F. et van Oortmerssen G.A. (2000) A mouse is not just a mouse. *Animal Welfare* 9(2):193-205.
- Small J.D. et Deitrich R. (2007) Environmental and equipment monitoring (chapitre 12). Dans: *The Mouse in Biomedical Research*, 2^e éd. Volume III: Normative Biology, Husbandry, and Models. (Fox G.J., Barthold S.W., Davisson M., Newcomer C., Quimby F. et Smith A.L., éd.). New York NY: Elsevier, pp. 409-436.
- Smith J. et Baran S. (2013) Rodent housing methodologies: A primer on the different housing types available. *ALN Magazine* 12(5):20-22.
- Smith A.J. et Hawkins P. (2016) Good science, good sense and good sensibilities: The Three Ss of Carol Newton. *Animals (Basel)* 6(11):piiE70.
- Song J., Chu S., Cui Y., Qian Y., Li X., Xu F., Shao X., Ma Z., Xia T. et Gu X. (2018) Circadian rhythm resynchronization improved isoflurane-induced cognitive dysfunction in aged mice. *Experimental Neurology* 306:45-54.
- Song D., Song J., Wang C., Li Y. et Dunaief J.L. (2016) Berberine protects against light-induced photoreceptor degeneration in the mouse retina. *Experimental Eye Research* 145:1-9.

- Sonner J.M., Gong D., Li J., Eger E.I.2nd et Laster M.J. (1999) Mouse strain modestly influences minimum alveolar anesthetic concentration and convulsivity of inhaled compounds. *Anesthesia and Analgesia* 89(4):1030-1034.
- Sorge R.E., Martin, L.J., Isbester K.A., Sotocinal S.G., Rosen S., Tuttle A.H., Wieskopf J.S., Acland E.L., Dokova A., Kadoura B., Leger P., Mapplebeck J.C.S., McPhail M., Delaney A., Wigerblad G., Schumann A.P., Quinn T., Frasnelli J., Svensson C.I., Sternberg W.F. et Mogil J.S. (2014) Olfactory exposure to males, including men, causes stress and related analgesia in rodents. *Nature Methods* 11(6):629-632.
- Spangenberg E., Wallenbeck A., Eklöf A.C., Carlstedt-Duke J. et Tjäder S. (2014) Housing breeding mice in three different IVC systems: Maternal performance and pup development. *Laboratory Animals* 48(3):193-206.
- Spangenberg E.M. et Keeling L.J. (2015) Assessing the welfare of laboratory mice in their home environment using animal-based measures – A benchmarking tool. *Laboratory Animals* 50(1):30-8.
- Speakman J.R. et Keijer J. (2013) Not so hot: Optimal housing temperatures for mice to mimic the thermal environment of humans. *Molecular Metabolism* 2(1):5-9.
- Stechman M.J., Ahmad B.N., Loh N.Y., Reed A.A., Stewart M., Wells S., Hough T., Bentley L., Cox R.D., Brown S.D. et Thakker R.V. (2010) Establishing normal plasma and 24-hour urinary biochemistry ranges in C3H, BALB/c and C57BL/6J mice following acclimatization in metabolic cages. *Laboratory Animals* 44(3):218-225.
- Sterley T.L., Baimoukhametova D., Füzesi T., Zurek A.A., Daviu N., Rasiah N.P., Rosenegger D. et Bains J.S. (2018) Social transmission and buffering of synaptic changes after stress. *Nature Neuroscience* 21(3):393-403.
- Swallow J., Anderson D., Buckwell A., Harris T., Hawkins P., Kirkwood J., Lomas M., Meacham S., Peters A., Prescott M.J., Owen S., Quest R., Sutcliffe R. et Thompson K. (2005) Guidance on the transport of laboratory animals. *Laboratory Animals* 39(1):1-39.
- Swoap S.J., Overton J.M. et Garber G. (2004) Effect of ambient temperature on cardiovascular parameters in rats and mice: A comparative approach. *American Journal of Physiology, Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 287(2):R391-396.
- Syversen E., Pineda F.J. et Watson J. (2008) Temperature variations recorded during interinstitutional air shipments of laboratory mice. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 47(1):31-36.
- Taft R.A., Davisson M. et Wiles M.V. (2006) Know thy mouse. *TRENDS in Genetics* 22(12):649-653.
- Takahashi H. and Liu C. (2010) Archiving and distributing mouse lines by sperm cryopreservation, IVF, and embryo transfer. *Methods in Enzymology* 476:53-69.
- Takeo T. et Nakagata N. (2011) Reduced glutathione enhances fertility of frozen/thawed C57BL/6 mouse sperm after exposure to methyl-beta-cyclodextrin. *Biology of Reproduction* 85(5):1066-1072.
- Takeo T., Fukumoto K., Kondo T., Haruguchi Y., Takeshita Y., Nakamuta Y., Tsuchiyama S., Yoshimoto H., Shimizu N., Li M.W., Kinchen K., Vallelunga J., Kent Lloyd K.C. et Nakagata N. (2014) Investigations of motility and fertilization potential in thawed cryopreserved mouse sperm from cold-stored epididymides. *Cryobiology* 68(1):12-17.
- Takeo T. et Nakagata N. (2015) Superovulation using the combined administration of inhibin antiserum and equine chorionic gonadotropin increases the number of ovulated oocytes in C57BL/6 female mice. *PLoS One* 10(5):e0128330.

- Tallent B.R., Law L.M., Rowe R.K. et Lifshitz J. (2018) Partial cage division significantly reduces aggressive behavior in male laboratory mice. *Lab Animal* 52(4):384-393.
- Tamura H., Ohgami N., Yajima I., Iida M., Ohgami K., Fujii N., Itabe H., Kusudo T., Yamashita H. et Kato M. (2012) Chronic exposure to low frequency noise at moderate levels causes impaired balance in mice. *PLoS One* 7(6):e39807.
- Tanaka T., Ogli K., Komatsu H., Nogaya J. et Yokono S. (1993) Strain-differences of sensitivity to volatile anesthetics and their genetic character in mice. *Journal of Anesthesia* 7(1):75-81.
- Tao S., Liu L., Shi L., Li X., Shen P., Xu Q., Guo X., Yu Z. et Wang J. (2015) Spatial learning and memory deficits in young adult mice exposed to a brief intense noise at postnatal age. *Journal of Otology* 10(1):21-28.
- Taylor D.K. (2007) Study of two devices used to maintain normothermia in rats and mice during general anesthesia. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 46(5):37-41.
- Teilmann A.C., Madsen A.N., Holst B., Hau J., Rozell B. et Abelson K.S. (2014) Physiological and pathological impact of blood sampling by retro-bulbar sinus puncture and facial vein phlebotomy in laboratory mice. *PLoS One* 9(11):e113225.
- Thomas A.A., Flecknell P.A. et Golledge H.D.R. (2012) Combining nitrous oxide with carbon dioxide decreases the time to loss of consciousness during euthanasia in mice – Refinement of animal welfare? *PLoS One* 7(3):e32290.
- Trammell R.A., Cox L. et Toth L.A. (2012) Markers for heightened monitoring, imminent death and euthanasia in aged inbred mice. *Comparative Medicine* 62(3):172-178.
- Trammell R.A. et Toth L.A. (2011) Markers for predicting death as an outcome for mice used in infectious disease research. *Comparative Medicine* 61(6):492-498.
- Tranquilli W.J et Grimm, K.A. (2015) Introduction: Use, definitions, history, concepts, classification, and considerations for anesthesia and analgesia. Dans: *Lumb and Jones' Veterinary Anesthesia and Analgesia* (Grimm K. A, Lamont L.A., Tranquilli W.J., Greene S.A. et Robertson S.A, éd.) 5^e éd. Hoboken NJ: Wiley-Blackwell, chapitre 1, p.3-10.
- Turner J.G., Bauer C.A. et Rybak L.P. (2007) Noise in animal facilities: Why it matters. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 46(1):10-13.
- Turner J.G., Parrish J.L., Hughes L.F., Toth L.A. et Caspary D.M. (2005) Hearing in laboratory animals: Strain differences and nonauditory effects of noise. *Comparative Medicine* 55(1):12-23.
- Turner P.V. (2018) [The role of the gut microbiota on animal model reproducibility](#). *Animal Models and Experimental Medicine* 1:109-115 (consulté le 2019-07-26).
- Turner P.V., Brabb T., Pekow C. et Vasbinder M.A. (2011a) Administration of substances to laboratory animals. Part A: Routes of administration and factors to consider. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 50(5):600-613.
- Turner P.V., Pekow C., Vasbinder M.A. et Brabb T. (2011b) Administration of substances to laboratory animals. Part B: Equipment considerations, vehicle and excipient selection, and solute preparation. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 50(5):614-627.

- Tyeus D. (2006) [Lab animal colony management software](#). *Animal Lab News* November/December (consulté le 2019-07-26).
- Tynes V.V. (2013) Behavioral dermatopathies in small mammals. *The Veterinary Clinics of North America, Exotic Animal Practice* 16(3):801-820.
- Ullman-Culleré M.H. et Foltz C.J. (1999) Body condition scoring: A rapid and accurate method for assessing health status in mice. *Laboratory Animal Science* 49(3):319-323.
- Urban R., Scherre G., Goulding E.H., Tecott L.H. et Basbaum A.I. (2011) Behavioral indices of ongoing pain are largely unchanged in male mice with tissue or nerve injury-induced mechanical hypersensitivity. *Pain* 152(5):990-1000.
- Valentim A.M., Guedes S.R., Pereira A.M. et Antunes L.M. (2015) Euthanasia using gaseous agents in laboratory rodents. *Laboratory Animals* 50(4):241-253.
- Van de Weerd H.A., Van Loo P.L.P., Van Zutphen L.F.M., Koolhaas J.M. et Baumans V. (1997) Preferences for nesting material as environmental enrichment for laboratory mice. *Laboratory Animals* 31(2):133-143.
- Van de Weerd H.A., Van Loo P.L.P., Van Zutphen L.F.M., Koolhaas J.M. et Baumans V. (1998a) Preferences for nest boxes as environmental enrichment for laboratory mice. *Animal Welfare* 7(1):11-25.
- Van de Weerd H.A., Van Loo P.L.P., Van Zutphen L.F.M., Koolhaas J.M. et Baumans V. (1998b) Strength of preference for nesting material as environmental enrichment for laboratory mice. *Applied Animal Behaviour Science* 55(3-4):369-382.
- Van der Meer E., Van Loo P.L. et Baumans V. (2004) Short-term effects of a disturbed light-dark cycle and environmental enrichment on aggression and stress-related parameters in male mice. *Laboratory Animals* 38(4):376-383.
- Van Loo P.L.P., Blom H.J.M., Meijer M.K. et Baumans V. (2005) Assessment of the use of two commercially available environmental enrichments by laboratory mice by preference testing. *Laboratory Animals* 39(1):58-67.
- Van Loo P.L.P., de Groot A.C., Van Zutphen B.F.M. et Baumans V. (2001a) Do male mice prefer or avoid each other's company? Influence of hierarchy, kinship, and familiarity. *Journal of Applied Animal Welfare Science* 4(2):91-103.
- Van Loo P.L.P., Mol J.A., Koolhaas J.M., Van Zutphen B.F. et Baumans V. (2001b) Modulation of aggression in male mice: Influence of group size and cage size. *Physiology & Behavior* 72(5):675-683.
- Van Loo P.L.P., Kruitwagen C.L.J.J., Van Zutphen L.F.M., Koolhaas J.M. et Baumans V. (2000) Modulation of aggression in male mice. Influence of cage cleaning regime and scent marks. *Animal Welfare* 9(3):281-295.
- Van Loo P.L.P., Kuin N., Sommer R., Avsaroglu H., Pham T. et Baumans V. (2007) [Impact of 'living apart together' on postoperative recovery of mice compared with social and individual housing](#). *Laboratory Animals* 41:441-455 (consulté le 2019-07-26).
- Van Loo P.L.P., Van de Weerd H.A., Van Zutphen L.F.M. et Baumans V. (2004) Preference for social contact versus environmental enrichment in male laboratory mice. *Laboratory Animals* 38(2):178-188.
- Van Loo P.L.P., Van Zutphen L.F.M. et Baumans V. (2003) Male management: Coping with aggression problems in male laboratory mice. *Laboratory Animals* 37:300-313.

- Villiger M., Goulley J., Friedrich M., Grapin-Botton A., Meda P., Lasser T. et Leitgeb R.A. (2009) In vivo imaging of murine endocrine islets of Langerhans with extended-focus optical coherence microscopy. *Diabetologia* 52(8):1599-1607.
- Vogelweid C.M., Zapien K.A., Honigford M.J., Li L., Li H. et Marshall H. (2011) Effects of a 28-day cage-change interval on intracage ammonia levels, nasal histology, and perceived welfare of CD1 mice. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 50(6):868-878.
- Voipio H.-M., Tsai P.-P., Brandstetter H., Gyger M., Hackbarth H., Hansen A.K. et Krohn T. (2011) Housing and care of laboratory animals. Dans: *The COST Manual of Laboratory Animal Care and Use* (Howard B., Nevalainen T. et Perretta G., éd.). New York NY: CRC Press, p. 29-73.
- Watson J. (2013) Unsterilized feed as the apparent cause of a mouse parvovirus outbreak. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 52(1):83-88.
- Weber E.M., Algers B., Hultgren J. et Olsson I.A.S. (2013a) Pup mortality in laboratory animal mice – Infanticide or not? *Acta Veterinaria Scandinavica* 55:83.
- Weber E.M., Algers B., Würbel H., Hultgren J. et Olsson I.A.S (2013b) Influence of strain and parity on the risk of litter loss in laboratory mice. *Reproduction in Domestic Animals* 48(2):292-296.
- Weber E.M., Hultgren J., Algers B. et Olsson I.A.S. (2016) [Do laboratory mouse females that lose their litters behave differently around parturition?](#) *PLoS One* 11(10):e0165578 (consulté le 2019-07-26).
- Weber E.M., Dallaire J.A., Gaskill B.N., Pritchett-Corning K.R. et Garner J.P. (2017) Aggression in group-housed laboratory mice: Why can't we solve the problem? *Lab Animal (NY)* 46(4):157-161.
- Westall L., Graham I.R. et Bussell J. (2015) A risk-based approach to reducing exposure of staff to laboratory animal allergens. *Laboratory Animals* 44(1):32-38.
- Wever K.E., Geessink F.H., Brouwer M.A.E., Tillema A. et Ritskes-Hoitinga M. (2017) [A systematic review of discomfort due to toe or ear clipping in laboratory rodents.](#) *Laboratory Animals* 51(6):583-600 (consulté le 2019-07-26).
- White W.J, Hawk C.T. et Vasbinder M.A. (2008) The use of laboratory animals in toxicology research. Dans: *Principles and Methods in Toxicology*, 5^e éd. (Hayes A.W., éd.). Boca Raton FL: CRC Press, p. 1055-1101.
- Whittaker A.L., Howarth G.S. et Hickman D.L. (2012) Effects of space allocation and housing density on measures of wellbeing in laboratory mice: A review. *Laboratory Animals* 46(1):3-13.
- Willott J.F. (2007) Factors affecting hearing in mice, rats, and other laboratory animals. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 46(1):23-27.
- Wong D., Makowska I.J. et Weary D.M. (2012) [Rat aversion to isoflurane versus carbon dioxide.](#) *Biology Letters* 9(1):20121000 (consulté le 2019-07-26).
- Workman P., Aboagye E.O., Balkwill F., Balmain A., Bruder G., Chaplin D.J., Double J.A., Everitt J., Farningham D.A.H., Glennie M.J., Kelland L.R., Robinson V., Stratford I.J., Tozer G.M., Watson S., Wedge S.R. et Eccles S.A. (Committee of the National Cancer Research Institute) (2010) Guidelines for the welfare and use of animals in cancer research. *British Journal of Cancer* 102(11):1555-1577.
- Wright-Williams S., Flecknell P.A. et Roughan J.V. (2013) Comparative effects of vasectomy surgery and buprenorphine treatment on faecal corticosterone concentrations and behaviour assessed by manual and automated analysis methods in C57 and C3H mice. *PLoS One* 8(9):e75948.

- Würbel H. et Stauffacher M. (1997) Age and weight at weaning affect corticosterone level and development of stereotypies in ICR-mice. *Animal Behaviour* 53(5):891-900.
- Yamamoto K., Gris K.V., Sotelo Fonesco J.E., Ghanagozloo M., Mahmoud S., Simard C., Houle-Martel D., Cloutier T., Gris P. et Gris D. (2018) Exhaustive multi-parametric assessment of the behavioral array of daily activities of mice using cluster and factor analysis. *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 12:187.
- Yamauchi C., Fujita S., Obara T. et Ueda T. (1983) Effects of room temperature on reproduction, body and organ weights, food and water intakes, and hematology in mice. *Experimental Animal* 32(1):1-11.
- York J.M., McDaniel A.W., Blevins N.A., Guillet R.R., Allison S.O., Cengel K.A. et Freund G.G. (2012) Individually ventilated cages cause chronic low-grade hypoxia impacting mice hematologically and behaviorally. *Brain Behavior and Immunity* 26(6):951-958.
- Yuan Z., Zakhaleva J., Ren H., Liu J., Chen W. et Pan Y. (2010) Noninvasive and high-resolution optical monitoring of healing of diabetic dermal excisional wounds implanted with biodegradable in situ gelable hydrogels. *Tissue Engineering Part C Methods* 16(2):237-247.
- Zhang H. et Good D.J. (2011) Comparison of hypothalamic mRNA levels in mice euthanized by CO₂ inhalation and focused-beam microwave irradiation. *Laboratory Animals* 40(10):313-318.
- Zhao L., Wang C., Song D., Li Y., Song Y., Su G. et Dunaief J.L. (2014) Systemic administration of the antioxidant/iron chelator α -lipoic acid protects against light-induced photoreceptor degeneration in the mouse retina. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 55(9):5979-5988.
- Zhi Z., Chao J.R., Wietecha T., Hudkins K.L., Alpers C.E. et Wang R.K. (2014) Noninvasive imaging of retinal morphology and microvasculature in obese mice using optical coherence tomography and optical microangiography. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 55(2):1024-1030.
- Zorn J., Ritter B., Miller M., Kraus M., Northrup E. et Brielmeier M. (2017) Murine norovirus detection in the exhaust air of ivcs is more sensitive than serological analysis of soiled bedding sentinels. *Laboratory Animals* 51(3):301-310.
- Zurita E., Chagoyen M., Cantero M., Alonso R., González-Neira A., López-Jiménez A., López-Moreno J.A., Landel C.P., Benítez J., Pazos F. et Montoliu L. (2011) Genetic polymorphisms among C57BL/6 mouse inbred strains. *Transgenic Research* 20(3):481-489.

ANNEXE 1

RESSOURCES POUR DES RENSEIGNEMENTS SUPPLÉMENTAIRES SUR LES CARACTÉRISTIQUES DES SOURIS

BIOLOGIE COMPORTEMENTALE (SECTION 1.1)

Comportement en milieu naturel (à l'état sauvage)

Singleton G.R. et Krebs C.J. (2007) The secret world of wild mice. Dans: *The Mouse in Biomedical Research*, 2^e éd. (Fox J.G., Barthold S.W., Davisson M.T., Newcomer C.E., Quimby F.W. et Smith A.L., éd.). New York NY: Elsevier, collection « American College of Laboratory Animal Medicine », volume 1 (History, Wild Mice, and Genetics), chapitre 3, p. 25-51.

Comportement en laboratoire

Mouse Ethogram, <http://www.mousebehavior.org>

ANATOMIE ET PHYSIOLOGIE (SECTION 1.3)

Harkness J.E., Turner P.V., Van de Woude S. et Wheler C.L. (2010) *Harkness and Wagner's Biology and Medicine of Rabbits and Rodents*, 5^e éd. Ames IA: Wiley-Blackwell.

Hoyt R.E., Hawkins J.V., St Clair M.B. et Kennett M.J. (2007) Mouse physiology. Dans: *The Mouse in Biomedical Research*, 2^e éd. (Fox J.G., Barthold S.W., Davisson M.T., Newcomer C.E., Quimby F.W. et Smith A.L., éd.). New York NY: Elsevier, collection « American College of Laboratory Animal Medicine », volume 3 (Normative Biology, Husbandry, and Models), chapitre 2, p. 23-90.

Iwaki T., Yamashita H. et Hayakawa T. (2001) *A Color Atlas of Sectional Anatomy of the Mouse*. Braintree MA : Braintree Scientific Inc.

Komárek V. (2007) Gross anatomy. Dans: *The Mouse in Biomedical Research*, 2^e éd. (Fox J.G., Barthold S.W., Davisson M.T., Newcomer C.E., Quimby F.W. et Smith A.L., éd.). New York, NY: Elsevier, collection « American College of Laboratory Animal Medicine », volume 3 (Normative Biology, Husbandry, and Models), chapitre 1, p. 1-22.

Mouse Phenome Database (MPD) <http://phenome.jax.org/>.

Percy D.H. et Barthold S.W. (2007) *Mouse-Pathology of Laboratory Rodents and Rabbits*, 3^e éd. Ames IA: Wiley-Blackwell.

Smith R.S., John S.W.M., Nishina P.M. et Sundberg J.P. (2001) *Systematic Evaluation of the Mouse Eye: Anatomy, Pathology, and Biomethods*. New York NY: CRC Press.

Treuting P.M., Dintzis S.M., Liggitt D. et Frevert C.W. (éd.) (2012) *Comparative Anatomy and Histology: A Mouse and Human Atlas*. New York NY: Academic Press.

ANNEXE 2

BASES DE DONNÉES DE LIGNÉES DE SOURIS MODIFIÉES PAR GÉNIE GÉNÉTIQUE

Les bases de données mentionnées dans la liste qui suit visent à fournir un point de départ pour déterminer si une lignée d'animaux génétiquement modifiés existe déjà et s'il est possible de se procurer des sujets. Les chercheurs devraient consulter des spécialistes des bases de données pour les aider à trouver l'information recherchée, et ce, dans toutes les bases pertinentes.

Pour obtenir des renseignements au sujet des caractéristiques des diverses souches de souris, consultez la page Web <http://mcp.bs.jhmi.edu/phenotyping-core>.

International Mouse Phenotyping Consortium (IMPC) : <https://www.mousephenotype.org/about-impc/>

Jackson Laboratory Mouse Genome Informatics (MGI) : <http://www.informatics.jax.org/>

International Mouse Strain Resource (IMSR) : <http://www.findmice.org/index.jsp>

Mutant Mouse Regional Resource Centers (MMRRC) : <http://www.mmrrc.org/>

European Mouse Mutant Archive (EMMA) : <https://www.infrafrontier.eu/infrafrontier-research-infrastructure/organisation/european-mouse-mutant-archive>

Sanger Mouse Resource Portal : <http://www.sanger.ac.uk/mouseportal/>

Mouse Phenome Database (MPD) : <https://www.jax.org/phenome>

Inbred Strains of Mice and Rats : https://www.informatics.jax.org/external/festing/search_form.cgi

ANNEXE 3

MÉTHODES D'IDENTIFICATION DES SOURIS

Le tableau ci-dessous liste les méthodes par ordre croissant du caractère invasif de la procédure.

MÉTHODES	AVANTAGES	EFFETS NÉFASTES ET INCONVÉNIENTS
Encre (marqueurs non toxiques)	<p>Peu invasive</p> <p>Facile à appliquer et réappliquer, notamment pour un petit nombre d'animaux</p> <p>Ne nécessite pas forcément la contention de l'animal</p>	<p>Visible pendant 14 jours seulement, quoique les nouveaux marqueurs sont plus permanents sur les pelages clairs</p> <p>L'effacement du marquage peut donner lieu à des erreurs d'identification ou à une nouvelle manipulation de l'animal pour répéter la procédure</p>
Tonte	<p>Peu invasive</p> <p>Rapide</p>	<p>Le bruit de la tondeuse peut énerver l'animal ou lui faire peur</p> <p>Irritation cutanée due au rasage</p> <p>Le rasage doit être répété après la repousse des poils</p> <p>Une contention plus importante que pour la coloration peut être nécessaire</p>
Transpondeur (puce électronique)	<p>Rapide, efficace</p> <p>Certains modèles permettent de surveiller à distance les paramètres physiologiques</p>	<p>Il peut être nécessaire d'anesthésier l'animal avant la pose</p> <p>Peut provoquer des changements physiologiques et comportementaux associés au stress</p> <p>Équipement requis pour lire la puce sous-cutanée et transmettre les informations enregistrées par le dispositif implanté</p> <p>Choix d'un dispositif adapté à l'étude (p. ex. non métallique si des techniques d'imagerie sont prévues)</p>
Tatouage	<p>L'encre est plus permanente que la peinture</p> <p>Peu invasive et résultats relativement permanent chez les animaux nouveau-nés (tatouage lisible à vie)</p>	<p>Si le tatouage est bien effectué et que l'encre est injectée au bon endroit sous la peau, il devrait être lisible et ne pas s'effacer avant la fin de l'étude</p> <p>Les aiguilles utilisées doivent être neuves et stériles</p> <p>Du matériel professionnel devrait être utilisé (pas des aiguilles normales)</p> <p>Le recours à des agents anesthésiques et analgésiques devrait être envisagé si le stress de la contention et de l'administration de l'agent ne présente pas une menace au bien-être des animaux plus importante que pour le tatouage</p>

MÉTHODES	AVANTAGES	EFFETS NÉFASTES ET INCONVÉNIENTS
Bouton	Moins de risque de perdre le bouton (peut tomber ou être arrachée) par rapport à l'étiquette	
Étiquette	Moyennement invasive; rapide Identification individuelle très visible, sans codification et donc accessible à tous	Risque d'inflammation ou de lésions tissulaires Les étiquettes métalliques utilisées dans les études à long terme ont été associées aux carcinomes squameux (Baron et coll., 2005) et aux infections à <i>Staphylococcus aureus</i> (Cover et coll., 1989) Perte (peut tomber ou être arrachée) Taille et forme appropriées ainsi qu'un bon positionnement pour éviter les problèmes de santé et de bien-être ou de perte d'étiquettes Le matériau de l'étiquette doit être approprié à l'étude (p. ex. non métallique si des techniques d'imagerie sont prévues) Le recours à des agents anesthésiques et analgésiques locaux devrait être envisagé, mais la contention préalable à la procédure peut menacer le bien-être de l'animal et les risques peuvent l'emporter sur les avantages
Entaille à l'oreille	Moyennement invasive; rapide Utilisation pour le génotypage du tissu prélevé lors de cette procédure	Formation nécessaire pour s'assurer que la marque est lisible, et la procédure, sans saignement Peut affecter la communication auditive Lésions auriculaires lors de combats entre animaux où la déchirure empêche de lire l'étiquette L'utilisateur doit connaître les codes d'identification L'entaille peut se refermer Le recours à des agents anesthésiques et analgésiques locaux devrait être envisagé, mais la contention préalable à la procédure peut menacer le bien-être de l'animal et les risques peuvent l'emporter sur les avantages

MÉTHODES	AVANTAGES	EFFETS NÉFASTES ET INCONVÉNIENTS
Phalangectomie	<p>Très invasive; rapide</p> <p>Utilisation au besoin pour des tests génétiques du tissu prélevé lors de cette procédure</p>	<p>Permis seulement si le génotypage doit être fait pour les très jeunes souris</p> <p>Permis seulement chez la souris âgée de 0 à 7 jours si aucune autre méthode ne permet l'identification de chaque animal et si le tissu prélevé sert au génotypage ou à d'autres procédures prévues dans le protocole; un seul orteil par animal peut être rogné</p> <p>Le génotypage à partir de rognures d'orteils doit être justifié auprès du comité de protection des animaux, et d'autres méthodes devraient être utilisées dans la mesure du possible (p. ex. le frottis buccal)</p> <p>Risque d'infection</p> <p>Affecte de manière permanente la mobilité, et est connue pour causer de la douleur chronique</p>

RÉFÉRENCES

Baron B.W., Langan G., Huo D., Baron J.M. et Montag A. (2005) Squamous cell carcinomas of the skin at ear tag sites in aged FVB/N mice. *Comparative Medicine* 55(3):231-235.

Cover C.E., Keenan C.M. et Bettinger G.E (1989) Ear tag induced *Staphylococcus* infection in mice. *Laboratory Animals* 23(3):229-233.

ANNEXE 4

PRATIQUES RECOMMANDÉES POUR LE GÉNOTYPAGE

PRÉFACE

Le génotypage vise à déterminer la variation génétique, du génome d'une cellule ou d'un individu, en examinant une séquence d'ADN par des méthodes de biologie moléculaire (comme la réaction en chaîne de la polymérase ou PCR et l'analyse par transfert de Southern) et en la comparant avec l'ADN d'un animal qui n'a pas été modifié par génie génétique ou avec une séquence témoin. Cela permet d'identifier les allèles hérités d'un parent.

Le génotypage des animaux exige que ces derniers soient identifiés, et le prélèvement d'échantillons appropriés est nécessaire pour l'analyse de l'ADN. Les méthodes utilisées pour l'identification, l'échantillonnage et le génotypage dépendent de l'espèce et de l'analyse requise. Les menaces au bien-être animal doivent être prises en considération dans le choix de la méthode, et des efforts devraient viser réduction au minimum de la douleur et de la détresse chez l'animal. La procédure utilisée pour le génotypage devrait également permettre de procéder à l'identification de l'animal (voir l'annexe 3, « Méthodes d'identification des souris ») et ainsi de réduire le nombre de procédures effectuées sur les animaux de manière à réduire au minimum la douleur et la détresse.

1. MÉTHODES POUR LE GÉNOTYPAGE DES ANIMAUX

Pour le bien-être des animaux, de même que pour la qualité des résultats scientifiques et une utilisation efficace du temps et des ressources (Bonaparte et coll., 2013), il est important de mettre au point une méthode d'analyse appropriée aux exigences de l'étude et de veiller à la mise en place de mesures pour obtenir des résultats optimaux (c.-à-d. réduire la nécessité d'un ré-échantillonnage). Avant de produire des animaux, il est important de s'assurer que l'épreuve est valide afin de produire uniquement le nombre d'animaux nécessaire. Le succès dépend de certains éléments essentiels, comme des échantillons adéquats, des mesures visant à empêcher la contamination entre les échantillons et la dégradation des échantillons d'ADN, une bonne purification de l'ADN, et l'amplification et le séquençage de l'ADN (Bonaparte et coll., 2013).

1.1 Réaction en chaîne de la polymérase

Une faible quantité d'acide nucléique, soit un petit échantillon de tissu (p. ex. encoche auriculaire), de fèces, de salive, de cheveux ou de sang, permet de procéder à la réaction en chaîne par polymérase (en anglais « PCR »). Cette technique devrait être utilisée pour une première sélection, et elle est recommandée pour le génotypage courant des colonies d'élevage (Robinson et coll., 2003). Bien que des méthodes de génotypage plus récentes existent, elles sont toutes fondées sur la PCR. Le recours à des services commerciaux de génotypages devrait être envisagé, en particulier lorsque l'établissement n'est pas familiarisé avec les procédures de génotypage.

Facteurs à considérer pour les procédures

- Du temps et des efforts sont nécessaires pour optimiser la PCR et pour que l'épreuve soit efficace et sensible en vue d'une identification sans équivoque des animaux transgéniques ou des cibles (Cowan, 2009).

- Des précautions devraient être prises pour éviter la contamination croisée entre les échantillons utilisés pour l'isolation de l'ADN (Robinson et coll., 2003).
- Il peut être difficile d'optimiser la PCR pour longs fragments (*long-range PCR*) utilisée pour déterminer si la recombinaison homologe s'est bien produite dans le génome des animaux génétiquement modifiés. De plus, le manque de contrôles positifs pour valider la réaction PCR complique le processus d'optimisation.

1.2 Analyse par transfert de Southern

L'analyse par transfert de Southern demeure la technique de choix pour identifier avec certitude les insertions ciblées et déterminer s'il y a eu des réarrangements lors de l'insertion du transgène ou du ciblage de gènes (Bonaparte et coll., 2013). Elle peut également servir à identifier la structure génétique entourant les pièges à gènes ou les sites d'insertion du transposon. En raison de la grande quantité de tissu nécessaire par rapport aux méthodes fondées sur la PCR, l'analyse par transfert de Southern ne devrait être utilisée que pour les animaux fondateurs.

Préoccupations liées au bien-être de l'animal

- Une grande quantité de tissu est nécessaire (p. ex. un échantillon de queue pouvant mesurer jusqu'à 0,5 cm) pour isoler une quantité suffisante d'ADN de qualité.

Raffinements possibles

- L'analyse par transfert de Southern est souvent la meilleure technique pour identifier les animaux fondateurs. Par contre, comme la PCR permet d'analyser des échantillons plus petits, elle devrait être utilisée pour une première sélection et est recommandée pour le génotypage courant des colonies d'élevage (Robinson et coll., 2003).
- Il est possible de raffiner au besoin l'analyse par transfert de Southern et la PCR en incorporant un gène rapporteur dans la construction à insérer dans l'ADN de l'animal, comme le gène de la luciférase qui est une enzyme clé de la réaction de bioluminescence. D'autres systèmes de gènes rapporteurs peuvent être utilisés.

2. MÉTHODES POUR OBTENIR DU MATÉRIEL GÉNÉTIQUE POUR RÉALISER LE GÉNOTYPAGE

Les sections ci-dessous traitent des différentes méthodes pour obtenir du matériel génétique pour réaliser le génotypage. Elles sont présentées dans l'ordre croissant de douleur et de détresse possible pour l'animal. En plus de veiller à réduire au minimum la douleur et la détresse chez l'animal, la méthode choisie devrait à la fois tenir compte de la quantité de tissus requis pour le type d'analyse effectuée et réduire au minimum la nécessité d'effectuer de nouveaux prélèvements. Des tissus prélevés pour l'identification des animaux peuvent être utilisés pour le génotypage, ce qui réduit le nombre de procédures invasives effectuées sur des animaux.

2.1 Échantillon de fèces

Le prélèvement d'échantillons de fèces est une méthode simple et non invasive d'obtenir du matériel génétique pour le génotypage des rongeurs (Chen et coll., 2012) par PCR (voir la section 1.1, « Réaction en

chaîne de la polymérase »). Les fèces contiennent des cellules mortes de l'épithélium intestinal, une source d'ADN fiable pour le génotypage (Chen et coll., 2012). Cette méthode n'est pas pratique si le nombre d'animaux est élevé et ne permet pas d'identifier les animaux. L'écouvillonnage rectal, bien que plus invasif, permet également d'obtenir des cellules épithéliales intestinales (Bonaparte et coll., 2013).

Préoccupations liées au bien-être de l'animal

- À part le stress pouvant être causé par la manipulation, cette procédure ne devrait pas compromettre le bien-être de l'animal (Robinson et coll., 2003).
- En général, il suffit de manipuler l'animal pour prélever des échantillons de fèces (Robinson et coll., 2003); une autre option consiste à placer la souris dans une nouvelle cage vide et attendre 1 ou 2 minutes (Hamman et coll., 2010). Cependant, la défécation se produit spontanément seulement chez les rongeurs âgés de plus de 14 jours; Hamman et ses collègues (2010) ont d'ailleurs souligné que l'expulsion spontanée ne se produit pas chez les souris âgées de 10 jours.

Facteurs à considérer pour les procédures

- La contamination croisée est une préoccupation importante dans le cas de prélèvements d'échantillons de fèces (Cinelli et coll., 2007).
- Les échantillons de fèces doivent être analysés dans les 24 heures et, pour les rongeurs, il faut généralement plus d'une boulette fécale (Bonaparte et coll., 2013).
- Il faut un réactif non toxique pour extraire et éliminer les inhibiteurs de PCR de l'ADN dans les matières fécales (Chen et coll., 2012).
- L'extraction de l'ADN dans les matières fécales est fiable seulement pour quelques constructions géniques (Hamann et coll., 2010); les chercheurs sont encouragés à essayer cette méthode et à publier leurs résultats pour établir la fiabilité de la méthode et en promouvoir l'utilisation.

2.2 Échantillon de salive et de cellules buccales

Le prélèvement d'échantillons de salive ou de cellules buccales est une méthode simple et peu invasive d'obtenir du matériel génétique (par pipette ou par frottis buccal) pour le génotypage par PCR (Meldgaard et coll., 2004, Mitrečić et coll. 2008, Robinson et coll., 2003). Le prélèvement de salive à l'aide d'un coton-tige permet d'obtenir des cellules épithéliales (Robinson et coll., 2003) de manière peu invasive chez les animaux de très petite taille (Zhang et coll., 2006).

Préoccupations liées au bien-être de l'animal

- L'ouverture forcée de la bouche pour le prélèvement d'un échantillon de salive peut être stressante pour l'animal; il est donc nécessaire de réaliser cette manipulation de manière compétente (Robinson et coll., 2003).
- On relève des cas de morsure de la langue lors de prélèvements de ce type chez la souris (Cinelli et coll., 2007).
- Si des pipettes ou d'autres instruments sont utilisés pour le prélèvement de salive ou de cellules buccales, ces objets ne doivent comporter aucune arête vive.

Facteurs à considérer pour les procédures

- Les petits non sevrés peuvent être contaminés par l'épithélium maternel (Robinson et coll., 2003).
- Les échantillons peuvent être souillés de sang en cas de blessure dans la cavité buccale; par exemple, si la souris se mord la langue lors de la procédure (Cinelli et coll., 2007).

Raffinements possibles

- Échantillon de fèces (section 2.1).

2.3 Échantillon de follicules pileux

Les poils peuvent être prélevés sur le ventre de l'animal avec des pinces et avec peu de manipulation (Cinelli et coll., 2007; Norecopa, 2008). L'analyse des poils pour le génotypage est préférable à celle du sang ou de tissus, car la procédure, simple et rapide, est moins stressante pour l'animal et les substances requises sont peu coûteuses (Terrell et coll., 2007). Bien que peu invasive, cette méthode est peu utilisée vu le risque de contamination (voir ci-dessous). Elle peut cependant être pratique pour un nouveau prélèvement ou pour un échantillonnage de confirmation, car il s'agit d'une méthode à faible débit. La méthode est également utile si d'autres procédures invasives représentent un risque pour la colonie, comme chez les animaux fortement immunodéprimés ou ceux souffrant de troubles de la coagulation (Bonaparte et coll., 2013).

Facteurs à considérer pour les procédures

- Les échantillons de poils sont difficiles à manipuler; la force électrostatique tend à les faire coller aux instruments et ils deviennent alors une source de contamination (Cinelli et coll., 2007; Norecopa, 2008).
- La possibilité de contamination croisée entre les petits dans la portée est une préoccupation importante (Robinson et coll., 2003).

Raffinements possibles

- Échantillon de fèces (voir la section 2.1); échantillon de salive et de cellules buccales (voir la section 2.2).

2.4 Échantillon de sang

Le prélèvement sanguin n'est pas utilisé fréquemment, car des compétences techniques sont nécessaires pour effectuer cette procédure risquée chez les petits animaux. Le petit échantillon ainsi obtenu pour le génotypage de la souris convient lorsque les animaux sont regroupés selon le phénotype cellulaire (Norecopa, 2008).

Préoccupations liées au bien-être de l'animal

- Le prélèvement d'échantillons sanguins chez les petits animaux est une procédure complexe qui exige des compétences professionnelles pour réduire le plus possible la douleur et la détresse (Norecopa, 2008).
- On ne devrait pas prélever à un animal plus de 10 % de son volume sanguin total en une fois ou plus de 15 % en l'espace de 28 jours; pour les prélèvements multiples rapprochés, le volume limite prélevé sur 24 heures est de 1 % de la masse sanguine circulante de la souris (c'est-à-dire 0,01 x masse sanguine circulante (ml/jour), soit environ 0,6 ml/kg/jour) (Morton et coll., 1993).

- Le prélèvement sanguin chez la souris âgée de moins de 2 semaines devrait être évité compte tenu du risque de choc hypovolémique (Robinson et coll., 2003).

Facteurs à considérer pour les procédures

- Des [exemples de pratiques recommandées pour le prélèvement sanguin](#) sont fournis dans une section du site Web du NC3Rs.

Raffinements possibles

- Échantillon de fèces (section 2.1), de salive, de cellules buccales (section 2.2), de follicules pileux (section 2.3).

2.5 Biopsie tissulaire

2.5.1 Biopsie auriculaire

La biopsie de l'oreille provoque moins d'inconfort que celle de la queue parce qu'elle ne touche pas un tissu osseux (Norecopa, 2008). Il est généralement plus facile d'obtenir de bons résultats à partir d'un prélèvement auriculaire ce dernier contenant plus d'ADN que les tissus prélevés sur la queue ou sur une autre partie du corps (Ren et coll., 2001; Robinson et coll., 2003). Le tissu prélevé sur l'oreille pour le génotypage peut également être utilisé pour l'identification des animaux.

Préoccupations liées au bien-être de l'animal

- La méthode employée peut causer de la douleur et de l'inconfort chez l'animal (Norecopa, 2008).
- Il peut y avoir inflammation et saignement en cas de mauvaise exécution de la biopsie.
- Cette procédure ne devrait pas être effectuée chez les souris âgées de moins de 2 semaines compte tenu de la petite taille de leurs oreilles (Norecopa, 2008).

Facteurs à considérer pour les procédures

- Des instruments propres devraient être utilisés, et l'équipement chirurgical devrait être nettoyé entre chaque procédure.

2.5.2 Biopsie caudale

La biopsie caudale devrait être effectuée seulement si d'autres méthodes ne permettent pas d'obtenir les résultats recherchés. C'est le cas par exemple du génotypage quantitatif (pour déterminer le nombre de copies de diverses régions) des animaux fondateurs. En général, un petit échantillon de la queue (moins de 3 mm) devrait suffire pour l'analyse par la méthode de PCR, contrairement à 5 mm pour la méthode par transfert de Southern.

Préoccupations liées au bien-être de l'animal

- La biopsie caudale devrait être effectuée une seule fois chez un animal; la nécessité de faire une deuxième biopsie exige au préalable une solide justification sujette à l'approbation du comité de protection des animaux.

- Les méthodes non invasives ou moins invasives devraient être envisagées, car cette procédure peut causer de la douleur, de la souffrance et de la détresse (Robinson et coll., 2003).
- Les réactions comportementales et les réactions à la douleur lors d'une biopsie caudale varient selon la souche et l'âge de l'animal et le stade de développement des vertèbres (Hankenson et coll., 2008).
- La peau et le périoste de la queue des souris sont très innervés, c'est pourquoi l'animal risque de ressentir une douleur grave ou chronique même si un petit échantillon est prélevé (Robinson et coll., 2003).
- Chez la souris, l'ossification de la vertèbre caudale commence vers l'âge de 2 à 3 semaines; soit avant l'âge moyen du sevrage (environ de 21 jours). On observe une minéralisation osseuse de cette vertèbre, et ce, même à l'extrémité de la queue (dernier millimètre) (Hankenson et coll., 2008; Robinson et coll., 2003).
- La biopsie de la queue devrait être effectuée seulement chez les jeunes souris (âgées de 14 à 17 jours) pour éviter de toucher aux vertèbres distales ayant atteint la maturité (Hankenson et coll., 2008), et la taille de l'échantillon prélevé devrait être la plus petite possible pour permettre le génotypage.

Facteurs à considérer pour les procédures

- La concentration d'ADN est élevée dans les tissus prélevés chez le souriceau (Hankenson et coll., 2008).
- Des instruments propres et aiguisés devraient être utilisés et nettoyés entre chaque intervention.

Raffinements possibles

- Des méthodes moins invasives, comme les échantillons de fèces (section 2.1), de salive, de cellules buccales (section 2.2), de follicules pileux (section 2.3) ou de sang (section 2.4), devraient être utilisées pour un génotypage qualitatif et habituellement réalisé à l'aide de la technologie de la PCR (Norecopa, 2008). La biopsie de l'oreille est considérée comme moins invasive que celle de la queue et permet d'obtenir des tissus dont l'analyse peut être effectuée avec les mêmes méthodes; elle peut donc bien remplacer la biopsie de la queue dans les programmes de génotypage par PCR.
- L'isoflurane doit être utilisée pour l'anesthésie si la biopsie caudale est effectuée chez les souris âgées de plus de 4 semaines. Cependant, les comportements anxieux augmentent chez la souris qui a été exposée à l'isoflurane (Hankenson et coll., 2008), et la réaction d'aversion est plus marquée à chaque nouvelle exposition (Moody et Weary, 2014). D'autres études sont nécessaires pour déterminer l'efficacité des anesthésiques et des analgésiques topiques pour atténuer les effets néfastes de la biopsie chez les jeunes souris (Hankenson et coll., 2011).

RÉFÉRENCES

Bonaparte D., Cinella P., Douni E., Hérault Y., Maas A., Pakarinen P., Poutanen M., Lafuente M-S. et Scavizzi E. (2013) FELASA guidelines for the refinement of methods for genotyping genetically-modified rodents: A report of the Federation of European Laboratory Animal Science Association Working Group. *Laboratory Animals* 47(3):134-145.

Chen Z., Mantha R.R., Chen J.S., Slivano O.J. et Takahashi H. (2012) Non-invasive genotyping of transgenic animals using fecal DNA. *Lab Animal* 42(4):102-107.

Cinelli P., Rettich A., Seifert B., Bürki K. et Arras M. (2007) Comparative analysis and physiological impact of different tissue biopsy methodologies used for the genotyping of laboratory mice. *Laboratory Animals* 41(2):174-184.

- Cowan M. (2009) Developing Genotyping Strategies [présentation]. *5th Annual Symposium of the Quebec Transgenic Research Network (QTRN)*, Montréal QC, 4 décembre.
- Hamann M., Lange N., Kuschka J. et Richter A. (2010) Non-invasive genotyping of transgenic mice: Comparison of different commercial kits and required amounts. *Alternatives to Animal Experiments* 27(3):185-190.
- Hankenson F.C., Braden-Weiss G.C. et Blendy J.A. (2011) Behavioral and activity assessment of laboratory mice (*Mus musculus*) after tail biopsy under isoflurane anesthesia. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 50(5):686-694.
- Hankenson F.C., Garzel L.M., Fischer D.D., Nolan B. et Hankenson K.D. (2008) Evaluation of tail biopsy collection in laboratory mice (*Mus musculus*): vertebral ossification, DNA quantity, and acute behavioral responses. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 47(6):10-18.
- Meldgaard M., Bollen P.J. et Finsen B. (2004) Non-invasive method for sampling and extraction of mouse DNA for PCR. *Laboratory Animals* 38(4):413-417.
- Mitrečić D., Mavrić S., Branica B.V. et Gajović S. (2008) [Mice genotyping using buccal swab samples: An improved method](#). *Biochemical Genetics* 46(3-4):105-112 (consulté le 2019-07-26).
- Moody C.M. et Weary D.M. (2014) Mouse aversion to isoflurane versus carbon dioxide gas. *Applied Animal Behaviour Science* 158:95-101.
- Morton D.B., Abbot D., Barclay R., Close B.S., Ewbank R., Gask D., Heath M., Mattic S., Poole T., Seamer J., Southee J., Thompson A., Trussell B., West C. et Jennings M. (1993) Removal of blood from laboratory mammals and birds. First Report of the BVA/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working Group on Refinement. *Laboratory Animals* 27(1):1-22.
- Norwegian Consensus Platform for Replacement Reduction and Refinement of Animal Experiments – Norecopa (2008) [Toe clipping in mice: An evaluation of the method and alternatives](#). Oslo, Norvège (consulté le 2019-07-26).
- Ren S., Li M., Cai H., Hudgins S. et Furth P.A. (2001) A simplified method to prepare PCR template DNA for screening of transgenic and knockout mice. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 40(2):27-30.
- Robinson V., Morton D.B., Anderson D., Carver J.F.A., Francis R.J., Hubrecht R., Jenkins E., Mathers K.E., Raymond R., Rosewell I., Wallace J. et Wells D.J. (2003) Refinement and reduction in production of genetically modified mice. *Laboratory Animals* 37(Suppl. 1):1-49.
- Terrell K.A., Rasmussen T.A., Trygg C., Bunnell B.A. et Buck W.R. (2007) Molecular beacon genotyping for globoid cell leukodystrophy from hair roots in the twitcher mouse and rhesus macaque. *Journal of Neuroscience Methods* 163(1):60-66.
- Zhang Y.H., Huang B.L., Eastman K., McCabe L.L., MacLennan N.K. et McCabe E.R. (2006) Mouth cell collection device for newborn mice. *Molecular Genetics and Metabolism* 89(1-2):164-167.

ANNEXE 5 INDICATEURS DE MALADIES

Voici une liste des principaux indicateurs de mauvais état de santé de la souris :

- pelage hirsute et terne, piloérection;
- changement de couleur de la peau ou des muqueuses (pâleur, hyperémie, cyanose, jaunisse);
- réduction de l'activité (réticence à bouger, désintérêt envers l'environnement, s'isole dans un abri ou dans un coin de la cage (Hankenson et coll., 2013), interactions réduites avec les compagnons de cage);
- dos voûté ou arrondi, léthargie, prostration, ne répond pas aux stimulations (mouvements lents ou absence de réaction aux stimuli) (Paster et coll., 2009);
- hyperactivité, grattage excessif;
- réaction démesurée aux stimuli;
- lésion cutanée (plaie, alopecie, dermatite (Kastenmayer et coll., 2006));
- présence d'une masse;
- distension abdominale;
- tachypnée, dyspnée (respiration anormale);
- signes neuromusculaires (boiterie, ataxie, tremblements, convulsion);
- indice d'état de chair inférieur ou égal à 2 (2 = maigre, 1 = émacié) (Ullman-Culleré et Foltz, 1999);
- perte de poids (parfois masquée par une masse ou une accumulation de fluides);
- hypothermie, hyperthermie (Nemzek et coll., 2004);
- comportements anormaux (y compris les stéréotypies), altérations du comportement;
- lésion oculaire, yeux clos ou mi-clos (Langford et ses collègues (2010) mentionnent la fermeture des yeux en plissant les paupières comme signe de douleur aiguë);
- diarrhée, constipation (Nemzek et coll., 2004);
- déshydratation;
- signes de douleur ou d'inconfort (grimaces; compression de l'abdomen contre le fond de la cage avec ou sans extension des membres postérieurs; spasmes cutanés; spasmes abdominaux; étirement d'un membre postérieur; tressaillements; décubitus ventral; démarche chancelante; dos voûté; posture ou démarche anormale; sautilllements; léchage; mordillage ou léchage des plaies; absence du comportement de nidification; réduction ou suppression de comportements normaux);
- mauvaises performances de reproduction.

Notes :

Les animaux de proie, comme les souris, peuvent dissimuler des signes cliniques ou des comportements associés à la maladie. La mortalité peut être le premier indice d'un problème au sein de la colonie ou lié à l'étude.

Les indicateurs nécessaires à l'évaluation de la santé animale (voir la liste non exhaustive ci-dessus) doivent être adaptés à l'individu et au modèle animal utilisé, notamment s'il s'agit d'un animal génétiquement modifié.

RÉFÉRENCES

Hankenson F.C, Ruskoski N, van Saun M., Ying G.S, Oh J. et Fraser N.W. (2013) Weight loss and reduced body temperature determine humane endpoints in a mouse model of ocular herpesvirus infection. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 52(3):277-285 [voir la figure 1 sur la notation de l'activité].

Kastenmayer R.J., Fain M.A. et Perdue K.A. (2006) A retrospective study of idiopathic ulcerative dermatitis in mice with a C57BL/6 background. *Journal of the American Association of Laboratory Animal Science* 45(6):8-12.

Langford D.J, Bailey A.L, Chanda M.L, Clarke S.E, Drummond T.E, Echols S., Glick S., Ingrao J., Klassen-Ross T., Lacroix-Fralish M.L., Matsumiya L., Sorge R.E., Sotocinal S.G., Tabaka J.M., Wong D., van den Maagdenberg A.M., Ferrari M.D., Craig K.D. et Mogil J.S. (2010) Coding of facial expressions of pain in the laboratory mouse. *Nature Methods* 7(6):447-449.

Nemzek J.A., Xiao H.Y., Minard A.E., Bolgos G.L. et Remick D.G. (2004) Humane endpoints in shock research. *Shock* 21(1):17-25 [voir le tableau 2].

Paster E.V., Villines K.A. et Hickman D.L. (2009) Endpoints for mouse abdominal tumor models: refinement of current criteria. *Comparative Medicine* 59(3):234-241 [voir la figure 2].

Ullman-Culleré M.H. et Foltz C.J. (1999) Body condition scoring: a rapid and accurate method for assessing health status in mice. *Laboratory Animal Science* 49(3):319-323.

ANNEXE 6

INDICATEURS POUR L'ÉVALUATION DU BIEN-ÊTRE DE LA SOURIS

INDICATEURS	COMMENTAIRES	RÉFÉRENCES
Nidification, notation concernant l'installation (« TINT test ») et la consolidation des nids	La construction de nids est affectée par le degré de stress thermique, l'agressivité des animaux dans la cage, et la douleur ou le malaise général ressenti chez la souris	Gaskill B.N., Karas A.Z., Garner J.P. et Pritchett-Corning K.R. (2013) Nest building as an indicator of health and welfare in laboratory mice . <i>Journal of Visualized Experiments</i> 82:e51012 (consulté le 2019-06-17). Oliver V.L., Thurston S.E. et Lofgren J.L. (2018) Using cageside measures to evaluate analgesic efficacy in mice (<i>Mus musculus</i>) after surgery. <i>Journal of the American Association for Laboratory Animal Science</i> 57(2):186-201.
Comportement fouisseur	Le changement du comportement fouisseur spontané est observé lors de la réaction inflammatoire d'une colite aiguë induite par le DSS	Jirkof P., Leucht K., Cesarovic N., Caj M., Nicholls F., Rogler G., Arras M. et Hausmann M. (2013) Burrowing is a sensitive behavioural assay for monitoring general wellbeing during dextran sulfate sodium colitis in laboratory mice. <i>Laboratory Animals</i> 47(4):274-83.
Corticostérone dans les matières fécales	La corticostérone peut être un marqueur de stress	Wright-Williams S., Flecknell P.A. et Roughan J.V. (2013) Comparative effects of vasectomy surgery and buprenorphine treatment on faecal corticosterone concentrations and behaviour assessed by manual and automated analysis methods in C57 and C3H mice. <i>PLoS One</i> 8(9):e75948.
Notation du toilettage (traces de porphyrines)	Test de sensibilité pour déceler la douleur postopératoire pendant les 48 premières heures	Oliver V.L., Thurston S.E. et Lofgren J.L. (2018) Using cageside measures to evaluate analgesic efficacy in mice (<i>Mus musculus</i>) after surgery. <i>Journal of the American Association for Laboratory Animal Science</i> 57(2):186-201.

INDICATEURS	COMMENTAIRES	RÉFÉRENCES
Grimaces faciales	Comme décrit par Langford et coll. (2010), le changement d'expression du faciès induit par la douleur est lié aux stimuli nociceptifs de durée moyenne	Langford D.J., Bailey A.L., Chanda M.L., Clarke S.E., Drummond T.E., Echols S., Glick S., Ingrao J., Klassen-Ross T., Lacroix-Fralish M.L., Matsumiya L., Sorge R.E., Sotocinal S.G., Tabaka J.M., Wong D., van den Maagdenberg A.M., Ferrari M.D., Craig K.D. et Mogil J.S. (2010) Coding of facial expressions of pain in the laboratory mouse. <i>Nature Methods</i> 7(6):447-449.
Comportement stéréotypé	Comme il est mentionné dans la section 6.2, « Gestion de l'hébergement », les comportements stéréotypiques sont souvent associés à un milieu pauvre et ils doivent être considérés comme des signes possibles de stress L'enrichissement peut réduire ce type de comportement Une corrélation positive entre la taille de la portée et le comportement stéréotypé existe chez les femelles de certaines souches de souris	Bechard A., Meagher R. et Mason G. (2011) Environmental enrichment reduces the likelihood of alopecia in adult C57BL/6J mice. <i>Journal of the American Association of Laboratory Animal Science</i> 50(2):171-174. Bechard A., Nicholson A. et Mason G. (2012) Litter size predicts adult stereotypic behavior in female laboratory mice. <i>Journal of the American Association of Laboratory Animal Science</i> 51(4):407-411. Gross A.N., Richter S.H., Engel A.K. et Würbel H. (2012) Cage-induced stereotypies, perseveration and the effects of environmental enrichment in laboratory mice. <i>Behavioural Brain Research</i> 234(1):61-68.
Tricophagie (rasage ou <i>barbering</i>)	Une préoccupation possible pour le bien-être de l'animal, notamment si auto-infligée	Tynes V.V. (2013) Behavioral dermatopathies in small mammals. <i>The Veterinary Clinics of North America. Exotic Animal Practice</i> 16(3):801-820.
Comportement positif	Une souris qui n'a pas peur de l'humain devrait ne pas s'éloigner, voire s'approcher, lorsqu'une personne tend la main à l'intérieur de la cage Cette réaction vaut également pour le tube de manipulation ou la main ouverte pour prendre la souris	Spangenberg E.M. et Keeling L.J. (2016) Assessing the welfare of laboratory mice in their home environment using animal-based measures – a benchmarking tool . <i>Laboratory Animals</i> 50(1):30-8 (documentation complémentaire). Hurst J.L. et West R.S. (2010) Taming anxiety in laboratory mice. <i>Nature Methods</i> 7(10):825-826.

GLOSSARY

Aménagements – Ajouts permanents ou temporaires à la cage d'un animal qui répondent à un besoin ou qui enrichissent son environnement.

Analgésie – Diminution de la réaction à une stimulation nociceptive.

Anesthésie – Perte réversible de sensation et de fonction motrice provoquée par un agent anesthésique.

Animal sentinelle – Animal exempt de micro-organismes pathogènes spécifiques que l'on sait vulnérable à un agent infectieux et que l'on place dans une zone potentiellement contaminée, par exemple lors de la livraison de nouveaux animaux de laboratoire en quarantaine; cet animal est ensuite testé pour qu'on puisse vérifier s'il est infecté ou s'il a développé des anticorps en réaction aux agents infectieux.

Barrière – Structure physique et procédurale pour séparer les différentes zones d'une animalerie afin de réduire le risque de contamination croisée; des barrières sont couramment utilisées pour maintenir à l'écart les animaux dont l'état sanitaire n'est pas le même ou n'a pas encore été déterminé.

Bien-être – Santé physique et mentale de l'animal.

Cage métabolique – Hébergement individuel des animaux qui permet de mesurer facilement la consommation de nourriture et de liquide et de prélever des échantillons d'urine ou de matière fécale.

Comportements anormaux – Actions démontrées par un animal qui ne font pas partie du répertoire de comportements innés de l'espèce.

Congénères – Animaux appartenant à une même espèce.

Détresse – État caractérisé par un déploiement, par l'animal, de ressources ou d'efforts importants pour s'adapter aux défis contextuels de son environnement; cet état, accompagné de douleur ou non, est associé à une procédure invasive, à une contention ou à toute autre situation dans laquelle le bien-être de l'animal est gravement compromis.

Douleur – Expérience sensorielle désagréable liée à des lésions tissulaires réelles ou potentielles.

Enrichissement – Améliorations apportées à l'environnement de l'animal allant au-delà des besoins de base propres à l'espèce et bonifiant sa qualité de vie générale.

Entaille à l'oreille – Élimination d'un morceau d'oreille pour l'identification des animaux à l'aide de trou ou d'encoche ou pour le génotypage à partir du tissu prélevé.

Équipement de protection individuelle – Vêtement ou accessoire dont le personnel se sert pour se protéger contre un risque de blessure, d'infection ou de réaction allergique dans le cadre de travaux avec des animaux; exemples de dangers possibles : lésions (p. ex. morsures ou égratignures), contaminants et poussières en suspension dans l'air.

État affectif – État d'esprit d'un individu (ou d'un animal) qui, causé par l'expérience subjective, entraîne des modifications physiologiques et comportementales.

Exempt d'organismes pathogènes spécifiques – Désignation se rapportant à l'état de santé d'animaux qui ont fait l'objet de tests confirmant l'absence d'agents potentiellement infectieux précis.

Génétiquement modifié – Modification intentionnelle du génome, ensemble du matériel à l'origine des caractéristiques génétiques d'un organisme.

Génotypage – Détermination de l'ensemble des gènes (le génotype) d'un animal par l'analyse de la séquence de son ADN; cette analyse repose sur des essais biologiques et la comparaison avec la séquence d'un autre animal ou une séquence de référence.

Gestion et soins – Ensemble des soins aux animaux et de leur gestion dans une animalerie (laboratoire, ferme, aquarium) [le présent document ne contient pas de lignes directrices pour souris dans les études sur le terrain].

Homéostasie – Processus interne de régulation de l'organisme qui maintient des conditions physiologiques constantes pour assurer la survie dans les meilleures conditions.

Inconfort – Forme légère de détresse.

Jeu – Activité libre pratiquée par un ou plusieurs animaux, en présence ou non de jouets, recherchée dans un but autre que de répondre aux besoins de reproduction et de survie, et qui procure du bien-être.

Litière – Matériau recouvrant le sol des enclos d'animaux (p. ex. cage) pour leur procurer du confort et les garder au sec; également appelé substrat.

Phénotype – Caractéristiques observables d'un organisme, comme son apparence, sa croissance et son comportement.

Plan d'expérimentation – Processus de planification d'une étude visant l'utilisation d'un nombre d'animaux compatible avec les objectifs scientifiques, de méthodes réduisant la possibilité de biais subjectif et d'une analyse statistique appropriée.

Point limite – Moment où la douleur ou la détresse d'un animal est arrêtée, minimisée ou diminuée lors d'une procédure, déterminé selon des critères qui tiennent compte du bien-être de l'animal (critère de bien-être) et de l'objectif de l'étude (critère d'effet scientifique).

Procédure normalisée de fonctionnement – Document qui décrit en détail la manière dont une procédure devrait être effectuée.

Qualité de vie – Bien-être de l'animal tout au long de sa vie.

Quarantaine – Confinement des animaux qui pourraient être porteurs de maladies infectieuses, le temps nécessaire à leur évaluation.

Raffinement – Modifications apportées aux méthodes de soins et de gestion des animaux ou aux procédures expérimentales afin de réduire la douleur et la détresse.

Sédatif – Drogue qui peut réduire l'agitation.

Stéréotypie – Répétition sur le même mode d'un ensemble de gestes sans but apparent.

Stress – État causé par des facteurs externes qui perturbe l'homéostasie chez un animal; le stress peut avoir des avantages (comme le déclenchement d'une réaction de fuite chez un animal menacé, ce qui l'aidera à s'adapter aux changements de son environnement); la prolongation de cet état peut cependant entraîner des changements endocriniens et réduire la capacité de l'animal à vivre avec les modifications de son environnement.

Trois R – Stratégies (remplacement, réduction et raffinement) appliquées dans le domaine de la science faisant appel aux animaux, comme proposées par Russel et Burch dans *Principles of Humane Experimental Technique* (1959).