



NOUVELLES LIGNES DIRECTRICES DU CCPA : LES SOURIS

- ⇒ *Ce document s'adresse aux **utilisateurs d'animaux** (chercheurs et leurs équipes), aux comités de protection des animaux, aux gestionnaires d'animaleries, aux vétérinaires et au personnel de soin des animaux.*
- ⇒ *Il s'agit d'une importante référence à garder proche, étant donné qu'il contient les nouvelles exigences minimales en matière de santé et bien-être animal, mais aussi une foule d'informations utiles pour votre recherche.*
- ⇒ *Nous sommes conscients que vous n'avez peut-être pas le temps de passer au travers de cet ouvrage de référence, alors dans le cadre du « CDEA en bref », nous avons préparé une courte **synthèse des nouveautés et informations de dernière heure** sur l'utilisation des souris en recherche.*

LIGNÉE DE SOURIS : IMPACT SUR D'AUTRES SYSTÈMES PHYSIOLOGIQUES

Lorsqu'on crée ou utilise une nouvelle lignée de souris, il est toujours bien important de s'adapter à celle-ci, surtout si elle est issue de génie génétique. En effet, avec les manipulations génétiques d'insertion et de délétion de gènes ou de séquence cre-lox, il est possible d'induire des modifications dans la séquence ou la structure d'autres gènes qui pourraient avoir des **répercussions dans d'autres systèmes physiologiques non étudiés**. Ainsi, les doses de médicaments et surtout d'anesthésiques peuvent varier grandement d'une lignée à une autre.

MICROBIOTE ET PHÉNOTYPE

IMPORTANCE	Le microbiote est un sujet à la mode déjà depuis plusieurs années, mais qui prend toujours plus d'ampleur. Plus les travaux de recherche avancent et plus on découvre la portée de l'implication du microbiote dans le phénotype des modèles de souris ainsi que les résultats des expériences qui vont en résulter.
FACTEURS	Les principaux facteurs influençant le microbiote d'une souris sont la source de provenance (pas juste vendeur, mais le site de production), la lignée, l'âge, diète et source d'eau, l'environnement, traitement expérimental, traitement aux antibiotiques et encore bien d'autres (Turner 2018).
IDENTIQUE	De plus, il est fréquent de regrouper les souris avec l'idée en tête qu'elles puissent partager le même microbiote. Or, bien qu'il soit important de les héberger en groupe autant que possible, le microbiote ne sera pas le même. S'il est essentiel qu'il soit identique pour une expérience donnée (ex. : microbiote affecte phénotype) il faudrait donc créer de vrais <i>littermate control</i> qui partageraient la même mère pendant la période de l'allaitement (Neff, 2019).

REPRODUCTIBILITÉ - VALIDITÉ - ENVIRONNEMENT

Dans un but d'augmenter la reproductibilité dans des travaux de comportement, la stratégie la plus commune est de standardiser l'environnement. On sait que de petites variations qui peuvent sembler insignifiantes peuvent avoir des répercussions majeures sur les résultats.

Or, de nouveaux travaux démontrent que de cette façon, les résultats sont très spécifiques aux conditions environnementales en place et obtiennent peu de validité externe. Une façon suggérée par Richter pour y remédier consiste à appliquer une **hétérogénéité systématique aux conditions environnementales** mises en place. De cette façon, il serait possible de limiter les évidences conflictuelles dans la littérature (Richter 2009).

SURFACE DISPONIBLE POUR LES ANIMAUX ET ENRICHISSEMENT

La surface minimale requise, en ce moment, pour une cage est définie à 330 cm² et de 100 cm² minimum par souris. En revanche, la densité de l'hébergement devrait être déterminée de façon à répondre à leurs besoins physiques et comportementaux comme la **possibilité d'éviter le contact physique ou visuel**. La compétition entre congénères et surtout l'agressivité peuvent engendrer des problèmes importants et sont directement reliés à la taille du groupe.

Il est important de noter qu'une fois les minimums atteints, il est beaucoup plus intéressant d'enrichir l'environnement que d'augmenter la surface disponible. En effet, un grand espace vide peut à l'inverse amener du stress et de l'anxiété pour les souris (Baumans 2010). La **diversification de l'enrichissement** a un impact considérable qui permet également de répondre à différents besoins de la souris : nidification, abri, confort thermique, éviter le contact avec ses congénères, etc. De plus, la souris est un animal thigmotactique, c'est-à-dire qu'elle va apprécier expérimenter différentes **textures** pour différents usages (Baumans 2010).

TRANSPORT DES ANIMAUX ET BRUIT

IMPACT DU BRUIT Le bruit peut rapidement devenir une perturbation importante du bien-être des animaux. On sait qu'ils y sont sensibles et particulièrement les souris. Cela peut avoir des répercussions au niveau de leur comportement normal, de **l'agressivité entre souris ainsi que sur la reproduction** dans les colonies. Tout est donc fait pour minimiser le bruit à proximité de ceux-ci. Une attention bien précise est portée lorsqu'il y a des travaux dans le bâtiment d'une animalerie. Or, souvent le bruit relié au transport des animaux est négligé.

VIBRATIONS Lorsque la cage est en contact direct avec un chariot sur un sol parfois inégal il peut y avoir de fortes vibrations qui sont transmises aux occupants de la cage (Hurst 2012). Différentes méthodes atténuantes peuvent être entreprises comme l'achat de chariot et/ou roues neuves qui minimisent les vibrations. Cependant, la méthode qui reste encore la plus simple et efficace consiste à placer quelque chose qui va **amortir les vibrations entre la cage et le chariot**. Il est recommandé d'utiliser un drap ou une couverture qui, de toute façon, doit être placée pour couvrir les cages s'il y a sortie de l'animalerie.

PAPIER BULLE À la Division des animaleries, nous avons mis à disposition du **papier bulle** dans les sas des animaleries, à placer entre la cage et le chariot, afin de minimiser l'exposition au bruit de vos animaux. N'hésitez pas à vous en servir et même à conserver le papier bulle que vous recevez avec vos commandes pour une telle utilisation qui va grandement aider au bien-être de vos souris.

HÉBERGEMENT EN GROUPE

PROBLÉMATIQUE Il a été démontré que les souris préfèrent être hébergées en groupe. Former des groupes sociaux consiste en un de leur comportement naturel (Van Loo et coll. 2004). Par contre, l'agressivité entre mâles est aussi monnaie courante chez les souris de laboratoire hébergées en groupe. Les blessures peuvent même être parfois mortelles. Alors comment attaquer cette problématique?

BATAILLES Bien que le mystère n'ait pas encore été élucidé, plusieurs facteurs de risque ont été identifiés. La première chose consiste à séparer sur-le-champ les souris qui se battent. Ce n'est pas une situation qui va se régler avec la mise en place d'une hiérarchie. Pour diminuer l'incidence de ce problème, il est recommandé d'assurer la stabilité des groupes sociaux pour les mâles après la puberté en limitant l'introduction de nouvel animal après l'âge de 32 à 36 jours.

ENVIRONNEMENT L'aménagement de la cage peut aussi aider en donnant aux souris des endroits où il est possible d'échapper au regard d'un congénère. En revanche, attention aux outils d'enrichissement : la présence d'un seul élément peut entraîner de la compétition pour la ressource convoitée. Maintenir une température de 20 à 22°C ainsi que fournir du matériel de nidification peut grandement aider. Lors des changements de cage, le nid peut être transféré (sans la litière), pour assurer une stabilité olfactive après le stress que peut amener cette procédure. Finalement, réduire la densité dans les cages est également un important facteur à considérer. (Charles River 2012)

INDICATEURS DE BIEN-ÊTRE ANIMAL

STRATÉGIE

Il est important d'instaurer une stratégie pour bien suivre le bien-être des animaux en tout temps. Hawkins et ses collègues ont décrit une façon de bâtir un plan efficace en plusieurs étapes clairement définies (Hawkins 2011). Tout commence par l'approche en équipe. Il est important de reconnaître l'expertise de chacun et d'établir les rôles en fonction de cela ainsi que de l'adapter au projet. Dans le même esprit, les indicateurs de bien-être qui vont être suivis doivent être **compatibles avec la recherche** effectuée sur les animaux, sans cela, les mesures n'auront aucune valeur ou, pire encore, vont interférer avec le projet de recherche. Il est important d'être constant entre observateurs, mais aussi entre espèces animales. Il est inapproprié de minimiser la capacité d'un animal à souffrir en raison de ses capacités cognitives moins développées qu'une autre espèce plus évoluée.

CATÉGORIES

On divise les indicateurs de bien-être animal en trois catégories : **état physique, physiologique ou biochimique et psychologique**. L'idéal est d'utiliser des indicateurs de ces trois catégories combinées.

- L'état physique consiste en l'apparence physique de l'animal : état du poil, poids corporel, état de chair, etc.

- L'état physiologique ou biochimique consiste aux signes vitaux et autres données physiologiques : fréquence cardiaque et respiratoire, niveau sérique de cortisol, etc.

- Finalement, l'état psychologique correspond au comportement de l'animal : stéréotypies, agressivité, résultats de tests comportementaux, etc.

Comme les projets de recherche peuvent parfois amener des effets secondaires dans la vie des animaux, il est également important d'adapter nos indicateurs pour les prendre en considération (si sévères et/ou inattendus) ou non (si légers et/ou attendus).

GRILLE

Finalement, il est également essentiel d'avoir une façon de **documenter et d'enregistrer** l'évolution de ces indicateurs, sans quoi il est impossible de déterminer l'explication ou la cause qui aurait pu engendrer une détérioration du bien-être de l'animal. Nous vous invitons fortement à consulter l'article (Hawkins 2011), car à la fin de celui-ci il y a une **grille d'évaluation avec pointage** qui est donnée en exemple. Cela pourrait vous inspirer à créer la vôtre!



ANESTHÉSIE

L'anesthésie chez la souris peut s'effectuer de diverses façons en fonction des besoins du projet de recherche : par inhalation ou injectables. Il est généralement recommandé de procéder à une anesthésie multimodale, qui consiste à combiner différents agents. De cette façon, on peut réduire les doses utilisées, minimiser les effets secondaires et améliorer le confort anesthésique en visant diverses cibles moléculaires.

Les doses d'anesthésiques pour les souris sont bien décrites dans la littérature, mais il ne faut jamais oublier que l'anesthésie est une procédure qui devrait être adaptée à l'individu. Surtout considérant qu'il peut y avoir une grande variabilité au niveau du métabolisme d'une lignée de souris à une autre.

Autre point important: comme les souris sont incapables de vomir, il n'est pas nécessaire de les mettre au jeûne. De plus, cela constitue un stress important pour un animal de cette taille.

GÉNOTYPAGE ET IDENTIFICATION

- ESSENTIEL** En raison des grands nombres de souris utilisées et de la diversité des lignées génétiques, il est essentiel d'avoir un système d'identification des souris et un système de génotypage qui correspond à vos besoins. Cela servira non seulement pour vos **projets d'études**, mais aussi pour pouvoir faire un **suivi de santé et bien-être adéquat**.
- INVASIVITÉ** L'idéal est d'utiliser la technique la **moins invasive possible**. Concernant l'identification, en ordre d'invasivité, nous avons : marque au crayon, tonte de pelage, transpondeur (micro-puce), tatouage, bouton, étiquette, entaille à l'oreille et phalangectomie. Évidemment, chaque technique comporte ses avantages et inconvénients et plus la technique choisie est invasive, plus la justification doit être solide. Pour le génotypage, en ordre d'invasivité, nous avons : échantillon de fèces, salive/cellules buccales, follicules pileux ou sang ainsi que des biopsies auriculaires et caudales.
- MÉTHODE** Comme il est fréquent d'avoir à identifier et génotyper une même souris il convient alors d'utiliser une méthode qui puisse faire les deux. **L'entaille à l'oreille** qui peut permettre de faire une biopsie auriculaire est une méthode de choix. En utilisant un système de codification adapté (The Jackson Laboratory 2015), il est possible d'identifier sa colonie entière et d'avoir suffisamment de matériel pour faire le génotypage.

RÉFÉRENCES

- Baumans V. (2010) The laboratory mouse. The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory and other Research Animals, 8e ed, Oxford R.-U.: Wiley-Blackwell, p.276-310.
- Charles River (2012) Reducing aggression in mice. Technical sheet. URL: http://animalab.eu/sites/all/pliki/produkty-dopobrania/Reducing_Aggression_in_Mice_Tech.pdf
- The Jackson Laboratory (2015) Universal Mouse Numbering system (within entire colony). URL: https://www.jax.org/-/media/jaxweb/files/jax-mice-and-services/universal_earpunch_mousenumbersystem20151030t101044.pdf?la=en&hash=7478399C2893B45EA5EE5A816655CCB738AC4881
- Hawkins P. *et al.* (2011) A guide to defining and implementing protocols for the welfare assessment of laboratory animals: Eleventh report of the BVAAWF/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working Group on Refinement. *Laboratory Animals* 45(1):1-13.
- 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.
- Neff. E.P. (2019) Littermate wanted: standardizing mouse gut microbiota requires more than cohousing. *Lab Animal* 48:197
- Richter S.H. *et al.* (2009) Environmental standardization: Cure or cause of poor reproducibility in animal experiments? *Nature Methods* 6 (4):257-261
- Turner P.V. (2018) The role of gut microbiota on animal model reproducibility. *Animal Models and Experimental Medicine* 1(2):109-115
- Van Loo P.L.P. *et al.* (2004) Preference for social contact versus environmental enrichment in male laboratory mice. *Laboratory Animals* 38 (2) :178-188.

Prochaine date limite de dépôt des protocoles : 6 mars 2020 > réunion le 20 mars 2020

Formulaires de dépôt des demandes à jour: www.cdea.umontreal.ca, section « Formulaires »



Nous joindre:

cdea@umontreal.ca • Secrétariat : Julie Dubuc (514) 343-5757 • Coordinatrice : Sophie Dubuisson (514) 343-6830

Rédaction : R. Santamaria, DMV Mise en page : S. Dubuisson, M.Sc.

LES BULLETINS CDEA EN BREF SONT DISPONIBLES EN LIGNE : www.cdea.umontreal.ca