

PROCÉDURE DE RÉGIE ET D'OPÉRATION STANDARD

EUTHANASIE AU DIOXYDE DE CARBONE (CO₂)

OBJECTIF : Description de la méthode d'euthanasie pour les petits rongeurs.

APPLICATION : Préposés aux soins animaliers et techniciens-animaliers.

RESPONSABLE : Responsable des animaleries.

DESCRIPTION :

1. GÉNÉRALITÉS

Dans ses lignes directrices sur l'euthanasie des animaux utilisés en science¹, lignes directrices qui ont été officialisées en 2010, et dans leur mise à jour publiée le 16 juillet 2020², le CCPA émet des réserves quant à l'utilisation du CO₂ comme méthode d'euthanasie acceptable pour les rongeurs.

En résumé, selon ces lignes directrices, l'inhalation de CO₂ ne devrait pas être utilisée si d'autres méthodes d'euthanasie s'avéraient compatibles avec le protocole expérimental et s'il était possible d'utiliser une méthode alternative chez l'espèce animale concernée.

Les méthodes telles que l'injection intra-péritonéale (IP) d'une surdose de barbiturique ou la surdose d'anesthésique à inhaler suivie d'une méthode complémentaire visant à s'assurer de la mort de l'animal sont à privilégier.

Dans les cas où l'utilisation du CO₂ reste la méthode retenue, le choix de la technique doit être justifié par le protocole expérimental et toujours suivi d'une méthode additionnelle d'euthanasie pour s'assurer la mort de l'animal.

Suite à l'analyse de la situation qui prévaut à ce jour à l'Université quant à l'euthanasie des rongeurs, ces méthodes suggérées, i.e. l'utilisation d'une surdose de barbiturique ou d'agent anesthésique, s'avèrent difficiles à mettre en pratique d'une façon sécuritaire, autant pour le personnel que pour les usagers, dans les animaleries de l'Université de Montréal.

L'utilisation de la technique décrite plus bas rend acceptable l'euthanasie par inhalation de CO₂ des rongeurs.

Afin de se conformer aux exigences du CCPA, il est essentiel d'avoir une formation adéquate avant de pratiquer cette méthode d'euthanasie.

¹ https://www.ccac.ca/Documents/Normes/Lignes_directrices/Euthanasie.pdf

²

https://www.ccac.ca/Documents/Normes/Lignes_directrices/Nouvelles_recommandations_du_CCPA_concernant_l-euthanasie_au_dioxyde_de_carbone.pdf

EUTHANASIE AU DIOXYDE DE CARBONE (CO₂)

IMPORTANT : La procédure suivante n'est acceptable que pour les petits rongeurs tels que les rats, souris, hamsters et cobayes.

Le CO₂ étant plus lourd que l'air, un animal qui s'étire vers le haut, prend plus de temps à s'endormir.

Comme avec toutes les méthodes d'euthanasie, il importe d'attendre suffisamment longtemps pour que la mort survienne et de vérifier chaque animal après l'euthanasie pour être certain de sa mort avant de mettre la carcasse au congélateur. Dans le cas du CO₂ cela implique de pratiquer une des techniques additionnelles d'euthanasie décrites plus bas.

Éviter tout accès visuel entre les animaux en processus d'euthanasie et ceux en attente de l'être.

2. TECHNIQUE

- Brancher le cordon électrique du **régulateur de CO₂ chauffant** quelques minutes avant l'utilisation. (2 à 5 minutes).
- **Garder les animaux à être euthanasiés dans leur cage.** La présence d'odeurs familières diminue le stress associé à l'exposition au CO₂. NE PAS MELANGER D'ANIMAUX PROVENANT DE CAGES DIFFERENTES
- Ouvrir le robinet métallique dans le haut de la bonbonne qui contrôle DIRECTEMENT la sortie du gaz de la bonbonne.
- **Euthanasie des rats :**
 - Déposer sur la cage le grand couvercle (Universal Lid, 18.25 po X 9.75 po)
 - Brancher le tube d'alimentation en CO₂ et le tube d'élimination au couvercle.
 - Tourner le régulateur du **grand débitmètre** (0-60 L/min) à **8 à 10 L/min** pour laisser s'échapper LENTEMENT le gaz et ce, pendant environ 2 à 3 minutes, ou jusqu'à ce que les animaux aient l'air endormi.
 - **Lorsque les animaux semblent endormis, augmenter le débit à 25 L/min.**
- **Euthanasie des souris :**
 - Déposer sur la cage le petit couvercle (Universal Lid, 11.5 po X 7.25 po)
 - Brancher le tube d'alimentation en CO₂ et le tube d'élimination au couvercle.
 - Tourner le régulateur du **petit débitmètre** (0-12 L/min) à **2 à 3 L/min** pour laisser s'échapper LENTEMENT le gaz et ce, pendant environ 2 à 3 minutes, ou jusqu'à ce que les animaux aient l'air endormi.
 - **Lorsque les animaux semblent endormis, augmenter le débit à 7 L/min.**
- **Euthanasie des opossums :**
 - Déposer sur la cage le grand couvercle (Universal Lid, 18.25 po X 9.75 po)
 - Brancher le tube d'alimentation en CO₂ et le tube d'élimination au couvercle.
 - Tourner le régulateur du **petit débitmètre** (0-12 L/min) à **2 à 3 L/min** pour laisser s'échapper LENTEMENT le gaz et ce, pendant environ 2 à 3 minutes, ou jusqu'à ce que les animaux aient l'air endormi.
 - **Lorsque les animaux semblent endormis, augmenter le débit à 7 L/min.**

EUTHANASIE AU DIOXYDE DE CARBONE (CO₂)

- Laisser les animaux dans la boîte d'euthanasie, attendre un minimum d'une minute, idéalement de 3 à 4 minutes après l'arrêt de la respiration.
- Vérifier à la palpation l'arrêt des battements cardiaques de chaque animal, puis **pratiquer une méthode additionnelle d'euthanasie** pour s'assurer de la mort de l'animal. Par exemple : exsanguination, dislocation cervicale, décapitation ou création d'un pneumothorax de tension par perforation de la cage thoracique.
- Débrancher le cordon électrique du régulateur de CO₂ chauffant et fermer le robinet métallique de contrôle sur la bonbonne, assurez-vous que la pression est à zéro.
- Déposer les carcasses dans un sac de plastique bien fermé.
- **Mettre le sac au congélateur.**
- Nettoyer le couvercle d'euthanasie après chaque utilisation à l'aide du désinfectant disponible (ex : Peroxygard™, Virkon™)

Note importante : Les rongeurs néonataux étant résistants à l'hypoxie, donc à l'euthanasie au CO₂, il est essentiel d'en connaître l'âge et de considérer l'espèce à euthanasier afin de les exposer suffisamment longtemps au gaz pour s'assurer de leur mort

Utiliser les tableaux suivants pour évaluer l'âge des **souriceaux** et déterminer le temps d'exposition adéquat pour l'euthanasie de ceux-ci

Description liée au développement postnatal pour estimer l'âge des souris consanguines jusqu'au jour 14 :

Age	Apparence
0 à 24 h	Rouge sang, possible tache blanche (estomac gorgé de lait), souris pigmentées ont les yeux noirs
Jour 1	Rose foncé, tache blanche visible (estomac gorgé de lait)
Jour 2	Les oreilles ressemblent à des protubérances, tache blanche visible, la pigmentation de la peau commence à apparaître
Jour 3	Pavillon de l'oreille commence à se détacher de la tête, tache blanche visible
Jour 4	Pavillon de l'oreille totalement détaché de la tête et perpendiculaire à la tête, peau entièrement pigmentée, tache blanche visible
Jour 5	Pavillon de l'oreille totalement vertical (contrairement à perpendiculaire), la peau paraît beaucoup plus épaisse, tache blanche commence à disparaître, incisives visibles en tant que points blancs sous les gencives
Jour 6	tache blanche a disparu ou à peine visible, duvet coloré apparaît derrière les oreilles et la partie dorsale du cou, incisives apparentes
Jour 7	Duvet coloré commence à couvrir les souriceaux en entier (plus visible sur les animaux albinos car les animaux noirs peuvent paraître "ouatés" à cause de la

EUTHANASIE AU DIOXYDE DE CARBONE (CO₂)

	poussière dans les cages
Jour 10	Oreille externe ouverte, souriceaux totalement couverts de poils
Jour 13 ou 14	Les yeux commencent à s'ouvrir mais l'ouverture n'est qu'une fente

Le développement physique des souriceaux non-consanguins est un peu plus rapide au début de leur vie (<6 jours). Par exemple, les souris non-consanguines ont les oreilles perpendiculaires à la tête au jour 2 au lieu de 3.

CO₂ Temps d'exposition nécessaire pour euthanasie de souris ³

	Temps d'exposition au CO ₂
Souriceaux sans poils (âgés de 0-6 jours)	50 min.
Souriceaux avec poils, yeux fermés (âgés de 7-13 jours)	20 min.
Souriceaux avec poils, yeux ouverts, pré-sevrage (âgés de 14-20 jours)	5 min.
Souriceaux sevrés et adultes (âgés de 21 jours et plus)	5 min.

Les expositions recommandées le sont à titre indicatif seulement. Le temps nécessaire à l'euthanasie peut varier en fonction du matériel utilisé. Une technique additionnelle pour s'assurer de la mort des souriceaux est également essentielle.

CO₂ Temps d'exposition nécessaire pour euthanasie de rats ⁴

Le jour de leur naissance, une exposition de 35 minutes à 100% de CO₂ est nécessaire pour assurer la mort des rats, alors qu'à partir de 10 jours d'âge, 5 minutes sont suffisantes pour les euthanasier.

3. Matériel nécessaire :

- Affiche plastifiée procédure d'euthanasie-rat
- Affiche plastifiée procédure d'euthanasie-souris
- Bombonnes de CO₂
- Chauffe gaz électrique
- Couvercle Universal Lid™ s'adaptant aux cages de rats ou de souris.
- Tuyaux d'alimentation et d'élimination de CO₂ avec connecteur.
- Registre d'euthanasie
- Sacs de plastique pour disposer des carcasses
- Congélateur

N.B. Deux bombonnes remplies seront disponibles pour chaque animalerie. Lorsqu'une bombonne de gaz est vide, le préposé aux soins animaliers en avise l'adjoint à la coordination qui réquisitionnera une bombonne de remplacement.

³ <https://www.avma.org/sites/default/files/2020-01/2020-Euthanasia-Final-1-17-20.pdf>

⁴ <https://www.avma.org/sites/default/files/2020-01/2020-Euthanasia-Final-1-17-20.pdf>

EUTHANASIE AU DIOXYDE DE CARBONE (CO₂)

Après la procédure, il est obligatoire de nettoyer le couvercle d'euthanasie, de mettre au congélateur la carcasse de l'animal euthanasié et de porter la cage sale à la salle de lavage.

BIBLIOGRAPHIE :

AVMA GUIDELINES FOR THE EUTHANASIA OF ANIMALS: 2020 Edition*

CONSEIL CANADIEN DE PROTECTION DES ANIMAUX. *Manuel sur le soin et l'utilisation des animaux d'expérimentation*, 2ième éd., Ottawa, 1993, Vol. 1, 282 p.

CONSEIL CANADIEN DE PROTECTION DES ANIMAUX. *Lignes directrices du CCPA sur : l'euthanasie des animaux utilisés en science*, 2010

CONSEIL CANADIEN DE PROTECTION DES ANIMAUX NOUVELLES RECOMMANDATIONS DU CCPA CONCERNANT L'EUTHANASIE AU DIOXYDE DE CARBONE, juillet 2020

CIIPA *Recommandations vétérinaires au sujet de l'utilisation de dioxyde de carbone (CO₂) comme agent acceptable pour l'euthanasie des rongeurs hébergés à l'Université de Montréal. mai 2012*

ANNEXES :

- EUT-02A : CO₂ Affiche procédure-rats
- EUT-02B : CO₂ Affiche procédure-souris
- EUT-02C : CO₂ Consignes générales
- EUT-02D : CO₂ Registre Formation
- EUT-02E : CO₂ Registre Utilisation
- EUT-02F : CO₂ – Affiche recommandations rongeurs néonataux

EUTHANASIE AU DIOXYDE DE CARBONE (CO₂)

APPROBATION :

	2020-07-22
Directrice	Date
	2020-07-22
Chef des services vétérinaires	Date
	2020-07-22
Responsable des soins animaliers	Date

SOU MIS AU CDEA : Date : _____

DATES DE MODIFICATION (+initiales):

2002-02-18	2015-11-19 sm	2020-07-22 form cl
2002-02-25	2016-01-18 od	
2007-01-18	2017-12-19 sm	
2010-03-02 CP	2019-11-01 RS	
2012-12-14 mal	2020-01-06 vérif sm	
2013-10-02 sm	2020-07-20 sm	