

PROCÉDURE DE RÉGIE ET D'OPÉRATION STANDARD

---

**PROGRAMME DE SENTINELLES**

---

**OBJECTIF :** Détecter la présence dans les salles de rongeurs de certains organismes pathogènes qui pourraient causer des maladies et/ou des altérations de la réponse des animaux en cours d'expérimentation.

**APPLICATION :** Techniciens en santé animale, préposés aux soins animaliers, vétérinaires.

**RESPONSABLE :** Techniciens en santé animale, vétérinaire clinicien.

**DESCRIPTION :**

1. GENERALITES

Les salles devant héberger des rongeurs durant plus de deux mois, doivent être dotées d'animaux sentinelles.

Ces sentinelles sont gardées pour une période maximale de trois mois afin d'optimiser la détection d'une séroconversion chez elles.

Les animaux sentinelles sont habituellement de jeunes femelles naïves de la même espèce et, de préférence, provenant du même fournisseur que les animaux sous protocole hébergés dans la salle.

En général, on choisit des animaux de souche non consanguine et immunocompétents ; ils proviennent habituellement, comme la majorité des animaux sous protocoles, de Charles River Canada (CRC).

Afin de permettre la transmission d'infections nouvellement acquises par les sentinelles plus vieille, i.e. avant une possible séroconversion chez elles, les jeunes sentinelles sont mises en contact avec les vieilles deux semaines avant l'euthanasie planifiée des sentinelles à remplacer.

Afin d'augmenter la probabilité de détecter la présence de pathogènes, il est important que les sentinelles soient mises le plus possible en contact avec les sécrétions des animaux hébergés dans la salle ou avec le matériel fraîchement contaminé par eux. Ainsi, si un animal sous protocole expérimental introduit un virus ou une bactérie pathogène, l'animal sentinelle servira à sonner l'alarme.

Pour ce faire, à chaque changement de cage, une quantité définie de matériel fraîchement souillé doit être prélevée de quelques cages d'animaux sous protocoles.

Il est essentiel d'effectuer une rotation des cages prélevées afin de tester tous les animaux hébergés dans la pièce.

## PROGRAMME DE SENTINELLES

---

Les cages des sentinelles, sans bonnet-filtre, doivent **être installées dans le bas des supports** et réparties également dans la salle. Au minimum, **une cage de sentinelles doit être placée près de la bouche d'évacuation d'air de la salle.**

Les animaux sentinelles sont hébergés généralement trois par cage.

Les sentinelles sont achetées par la Division des animaleries (DA) qui en assume les frais de pension ainsi que les frais d'analyses de laboratoire.

Les coûts d'achat des animaux sentinelles, de leur pension et des analyses effectuées représentent une dépense substantielle pour la DA, qui se doit de respecter l'équilibre budgétaire. Les usagers contribuent au budget de fonctionnement par le *per diem*.

### 2. PROCEDURE GENERALE DE CONTAMINATION

La procédure suivante est appliquée à tous les changements de cage par les préposés aux soins animaliers :

- mettre dans la nouvelle cage des sentinelles un peu de litière fraîchement souillée, soit environ 45 ml, provenant des cages d'animaux que les sentinelles surveillent. **Sélectionner de la litière semblant fraîchement souillée de fèces et d'urine, donc encore humide.**
- donner à ces sentinelles une bouteille avec sa suce provenant d'une cage d'animaux sous protocole.
- donner aux sentinelles les restes de nourriture provenant d'autres cages.

Il importe de varier la provenance du matériel souillé prélevé afin de mettre les sentinelles en contact avec le plus grand nombre d'animaux sous protocole expérimental possible.

Toujours travailler de façon à ne pas contaminer des animaux sous protocole expérimental à partir des sentinelles. Par conséquent, parce que les animaux sentinelles présentent le plus grand risque d'être contaminés, **la manipulation des sentinelles doit être faite après que le changement des cages de tous les animaux sous protocoles ait été effectué.**

### 3. ANALYSES EFFECTUEES ET FREQUENCE DES TESTS

Pour les rats et les souris hébergés à la Division des animaleries (DA), les analyses sont effectuées sur des animaux sentinelles quatre fois par année (juin, septembre, décembre et, mars). Les analyses sérologiques, PCR et bactériologiques sont effectuées à l'extérieur (i.e. Charles River Laboratories et Université McGill respectivement) alors que certains tests parasitologiques et l'évaluation macroscopique des rongeurs sont faits par les techniciennes de la DA.

#### 3.1. Rats et souris en hébergement standard :

**À tous les trois mois**, soit en **juin, septembre et décembre**, les rats et les souris sentinelles sont euthanasiés. Leur sang est prélevé et utilisé pour effectuer un test sérologique de base (**Prevalent®**) pour rechercher la présence d'anticorps contre les contaminants les plus fréquemment rencontrés chez les rongeurs (i.e. pour les souris : MPV-1, MPV-2, MVM, NS-1, MHV, MNV, TMEV, EDIM; et pour les rats : RPV, H-1, KRV, RMV, NS-1, SDAV, RTV, PCAR). Une nécropsie rapide est effectuée, et les ganglions mésentériques sont prélevés et congelés afin de pouvoir confirmer, par PCR, de potentiels résultats sérologiques positifs.

## PROGRAMME DE SENTINELLES

---

Une recherche de parasites internes et externes est également faite.

**Deux fois par année**, soit en **juin** et en **décembre**, des excréments frais sont récoltés dans les cages des animaux sentinelles pour rechercher par PCR la présence d'*Helicobacter* et d'oxyures, et un frottis cutané est effectué sur les mêmes animaux pour rechercher la présence de mites cutanées.

Un maximum de 10 boulettes fécales et de 10 écouvillons collants sont prélevés pour constituer un échantillon. Au moins un échantillon est soumis pour les rats sentinelles d'une animalerie et un autre est soumis pour les souris sentinelles de la même animalerie.

**À la fin du cycle de douze mois**, soit en **mars**, deux des sentinelles sont euthanasiées après un prélèvement de sang pour une analyse sérologique complète (**Assessment plus**<sup>®</sup>). Sur ces individus, une nécropsie complète est effectuée de même qu'une recherche de parasite interne par coprologie.

Encore une fois, les ganglions mésentériques sont prélevés et congelés pour analyse ultérieure (PCR) en cas de résultat sérologique positif.

L'autre sentinelle est envoyée vivante aux services de diagnostic de McGill pour analyses bactériologiques de sa flore respiratoire (système respiratoire supérieur et inférieur).

3.2. Colonies de souris modifiées génétiquement :

**À tous les trois mois**, soit en **mars, juin, septembre et décembre**, les souris sentinelles sont euthanasiées. Leur sang est prélevé et utilisé pour effectuer un test sérologique.

Une nécropsie rapide est effectuée, et les ganglions mésentériques sont prélevés et congelés afin de pouvoir confirmer, par PCR, de potentiels résultats sérologiques positifs.

Une recherche de parasites internes et externes est également faite.

**Deux fois par année**, soit en **juin** et en **décembre**, des excréments frais sont récoltés dans les cages des animaux sentinelles pour rechercher par PCR la présence d'*Helicobacter* et d'oxyures, et un frottis cutané est effectué sur les mêmes animaux pour rechercher la présence de mites cutanées.

Un maximum de 10 boulettes fécales peut être prélevé pour constituer un échantillon. Un maximum de 10 écouvillons collants constitue également un échantillon. Un échantillon est soumis par équipe de recherche maintenant des colonies de souris.

En **juin** et **décembre**, une sérologie de base (**Prevalent**<sup>®</sup>) est effectuée afin de rechercher la présence d'anticorps contre les contaminants les plus fréquemment rencontrés chez les souris (i.e. MPV-1, MPV-2, MVM, MHV, MNV, TMEV, EDIM).

Six mois après le début du cycle, soit en **septembre** un test sérologique plus élaboré est fait (**Tracking**<sup>®</sup>) pour rechercher la présence d'anticorps contre les contaminants suivants : MPV-1, MPV-2, MVM, MHV, MNV, TMEV, EDIM, SEND, PVM, REO, MPUL.

**À la fin du cycle de douze mois**, soit en **mars**, deux sentinelles sont euthanasiées après un prélèvement de sang pour une analyse sérologique complète (**Assessment plus**<sup>®</sup>).

L'autre sentinelle est envoyée vivante aux services de diagnostic de McGill pour analyses bactériologiques de sa flore respiratoire (système respiratoire supérieur et inférieur).

3.3. Hamsters et cobayes gardés en hébergement standard :

**À tous les trois mois**, soit en **juin, septembre et décembre**, les hamsters ou les cobayes sentinelles sont euthanasiés. Leur sang est prélevé et le sérum utilisé pour effectuer un test

## PROGRAMME DE SENTINELLES

---

sérologique (**Assessment**<sup>®</sup>) pour rechercher la présence d'anticorps contre les contaminants rencontrés chez les hamsters i.e. : SEND, PIV-5, PMV, REO, LCMV et ECUN ou chez les cobayes i.e. : ECUN, GAV, LCMV, MPUL, PIV3, PIV5, PVM, REO, SEND.  
Une nécropsie rapide est effectuée, et les ganglions mésentériques sont prélevés et congelés afin de pouvoir confirmer, par PCR, de potentiels résultats sérologiques positifs.  
Une recherche de parasites internes et externes est également faite.

**À la fin du cycle de douze mois, soit en mars**, la majorité des sentinelles est euthanasiée après un prélèvement de sang pour une analyse sérologique (**Assessment**<sup>®</sup>).  
Une sentinelle est envoyée vivante aux services de diagnostic de McGill pour analyses bactériologiques de leur flore respiratoire (système respiratoire supérieur et inférieur) et digestive (dans le cas du hamster seulement).

### 4. ACHAT D'ANIMAUX SENTINELLES

L'achat d'animaux est requis lors de l'ouverture d'une nouvelle salle de rongeurs pour plus de deux mois, au moment du remplacement des sentinelles (i.e. aux 3 mois) ou au besoin.

Une «Demande d'autorisation d'utiliser des animaux» est déposée annuellement par le chef des services vétérinaires de la DA au Comité de déontologie de l'expérimentation sur les animaux (CDEA).

Le technicien animalier responsable de l'animalerie où on a besoin de ces animaux commande, en utilisant le formulaire de commande d'animaux (ANI-01A), les rongeurs sentinelles requis au secrétariat de la DA, en utilisant le numéro de la demande autorisée par le CDEA et le numéro de bon de commande ouverte attribué pour ces achats.

Le nombre de sentinelles à maintenir par salle dépend du nombre total de rongeurs dans cette salle ou ce secteur, l'objectif idéal pour des fins statistiques étant de huit sentinelles. Ce sujet est traité au point suivant.

### 5. NOMBRE DE SENTINELLES

Le nombre idéal de sentinelles à tester a fait l'objet d'évaluation statistique. À partir de ces calculs, il a été démontré que, si on considère un taux de 30% de morbidité, un échantillonnage de **huit animaux serait nécessaire** pour déceler la présence d'une infection chez au moins une sentinelle avec un degré de confiance de 95%.

Dans nos animaleries, pour se plier au grand principe de réduction des nombres d'animaux utilisés, tout en respectant la validité de l'échantillonnage, nous considérons les animaux d'une même espèce, répartis dans plusieurs salles d'une même animalerie, comme une population uniforme. Ceci est possible parce que les animaux hébergés dans cette dite animalerie proviennent généralement d'un même fournisseur, qu'ils sont répartis dans plusieurs salles différentes pour des raisons spécifiques reliées aux protocoles expérimentaux, que peu d'animaux résident dans certaines de ces salles, que l'hébergement se fait dans des conditions conventionnelles et que les usager et le personnel animalier circulent fréquemment d'une salle à l'autre, ou encore que les animaux sont manipulés dans un laboratoire commun.

En conséquence, pour se plier au **minimum de huit (8) animaux sentinelles d'une même espèce par animalerie, chaque salle d'hébergement doit être surveillée par au moins trois (3) animaux sentinelles qu'on fait cohabiter dans une même cage.**

Les souris transgéniques gardées en microisolateur stérile constituent un cas particulier; chaque cage étant considérée comme un environnement isolé en soi.

## PROGRAMME DE SENTINELLES

---

**Une cage, par côté de support, contenant 3 souris sentinelles, est alors dédiée à un chercheur pour surveiller toutes ses lignées de souris.**

### 6. PRELEVEMENTS SANGUINS

Les sites de prélèvement décrits pour chacune des espèces sont en conformité avec les informations du document «Removal of blood from laboratory mammals and birds», recommandé par le Conseil canadien de protection des animaux (CCPA).

Le volume de sang prélevé suivi d'un réveil de l'animal ne devrait pas dépasser 10 à 15 % du volume sanguin total de l'animal.

Le volume sanguin total d'un animal peut être évalué ainsi :

- 78-80 ml/kg pour la souris
- 50-70 ml/kg pour le rat
- 78 ml/kg pour le hamster
- 65-90 ml/kg pour le cobaye

### 7. PROGRAMME DETAILLE : les RATS

#### 7.1 Achat des animaux

**Deux semaines avant la date prévue des tests trimestriels**, le technicien animalier commande des rats de souche CD, femelles (ou mâles dans les cas d'animaux sentinelles prévus pour la surveillance de rats mâles utilisés en comportement), de CRC, de poids corporel de 75 à 100 grammes. Les sentinelles sont hébergées en groupe de trois par cage.

#### 7.2 Analyses effectuées

7.2.1 Trois et neuf mois après le début du cycle de surveillance (juin et décembre) :

##### **Test Prevalent®**

- Peser les rats.
- La récolte de sang pour le test peut se faire de 2 façons, par exsanguination pour analyse de sérum ou par prélèvement d'une goutte de sang lorsque le Hematip® est utilisé :
- ENVOI DE SERUM :
  - Exsanguination des rats sous anesthésie générale à l'isoflurane.  
Ponction cardiaque sous anesthésie
    - Anesthésier l'animal.
    - Vérifier la profondeur de l'anesthésie avant de prélever le sang, en pinçant la patte arrière de l'animal et la queue.
    - Utiliser une seringue 3 ml et une aiguille 21Gx1½" pour ponctionner le sang directement dans le cœur, sous le thorax, avec un angle de 45 degrés. Prélever environ 2 ml de sang.
    - Transférer le sang récolté dans un tube de 2 ml (capuchon rouge).
    - Laisser coaguler à la température de la salle environ 20 à 30 minutes avant de le centrifuger.
    - Préparation et envoi de l'échantillon de sérum :

## PROGRAMME DE SENTINELLES

---

Centrifuger le sang au cycle préétabli sur la centrifugeuse, récolter le sérum à l'aide d'une pipette et le transférer dans les tubes fournis par CRL. Diluer le sérum avec PBS (1/4).

Congeler le tout.

- Conserver le sérum non utilisé au congélateur jusqu'à deux ans après son prélèvement.
  
- Hematip® :
  - Sous anesthésie générale, ou en utilisant une technique de contention adéquate, prélever un minimum de 25 µl (1 goutte) de sang et saturer l'éponge au bout de l'Hematip®.
  - Identifier les échantillons inscrivant l'information sur une étiquette à apposer sur l'Hematip®.
  - Placer l'Hematip dans son étui de plastique et laisser l'échantillon de sang sécher, avant de refermer le contenant en plastique. Garder au réfrigérateur jusqu'à l'envoi.
  
- Envoyer ensuite à CRL pour analyse de niveau «Prevalent». L'envoi doit se faire avec blocs réfrigérants pour maintenir le sérum congelé, si ce type d'échantillon est soumis, sinon l'envoi se fait sans prendre de précaution particulière.
- Remplir le formulaire de CRL pour analyse et faire 3 copies. Ne pas oublier d'indiquer le numéro de bon de commande à l'endroit approprié.

### Recherche d'oxyure (pinworm), Hélicobacter et de mites cutanées par PCR :

#### - Ne jamais mélanger les types d'échantillon à analyser.

- Recherche oxyure et Helicobacter :

Des excréments frais sont récoltés des animaux, ou dans les cages des animaux sentinelles, pour vérifier la présence par PCR d'oxyure et d'Helicobacter. Un maximum de 10 boulettes fécales peuvent être prélevées pour constituer un échantillon. Un seul échantillon est soumis pour représenter tous les rats de l'animalerie.
  
- Recherche de parasites externes :

À l'aide d'un écouvillon collant fourni par Charles Rivers Laboratories (Pink Sticky Swab), échantillonner en frottant la peau à rebrousse-poil la région des oreilles, sous le menton, à la base du cou (dorsalement), à la base de la queue et la région inguinale.  
Ne garder que la tête de l'écouvillon.  
Un maximum de 10 têtes d'écouvillon peuvent être prélevées pour constituer un échantillon. Un seul échantillon est soumis pour représenter tous les rats de l'animalerie.

#### Nécropsie rapide si le sang a été prélever par exsanguination :

- Vérifier l'état général de chaque animal et noter les signes cliniques s'il y a lieu.
- Évaluer chaque organe, prélever les organes démontrant des anomalies, les mettre dans une solution tamponnée de formaline 10% (1 vol de tissu pour 9 vol de formaline).
- Prélèvements et congélation des ganglions mésentériques.
- Placer les carcasses au congélateur.

## PROGRAMME DE SENTINELLES

---

Si le test Prevalent® s'avère positif pour un des pathogènes, soumettre les ganglions mésentériques de l'animal concerné à une analyse par PCR à CRL pour confirmer ou infirmer ce résultat.

### 7.2.2 Six mois après le début du cycle du programme de surveillance (septembre)

#### **Test Prevalent®**

- Peser les rats.
- La récolte de sang pour le test peut se faire de 2 façons, par exsanguination pour analyse de sérum ou par prélèvement d'une goutte de sang lorsque l'Hematip® est utilisé :

#### **Coprologie par flottation et centrifugation,**

- en utilisant le contenu du caecum et du colon de l'animal euthanasié ou en utilisant des fèces fraîches récoltées dans la cage.

#### **Grattages cutanés :**

- à l'aide d'une lame de scalpel et d'huile minérale effectuer un grattage cutané dans la région cervicale caudale et interscapulaire et dorsale caudale (au niveau des hanches).
- examiner le résultat du raclage cutané au microscope entre lame et lamelle.

#### **Nécropsie rapide de l'animal euthanasié:**

- Vérifier l'état général de chaque animal et noter les signes cliniques s'il y a lieu.
- Évaluer chaque organe, prélever les organes démontrant des anomalies, les mettre dans une solution tamponnée de formaline 10% (1 vol de tissus pour 9 vol de formaline).
- Prélèvements et congélation des ganglions mésentériques.
- Placer les carcasses au congélateur.

Si le test Prevalent® s'avère positif pour un des pathogènes, soumettre les ganglions mésentériques de l'animal concerné à une analyse par PCR à CRL pour confirmer ou infirmer ce résultat.

### 7.2.3 Douze mois après le début du cycle du programme de surveillance (mars)

#### **Test Assessment plus®**

- Peser les rats.
- Exsanguination d'au moins un rat sous anesthésie générale à l'isoflurane.
  - Ponction cardiaque sous anesthésie
  - Transférer le sang récolté dans un tube de 2 ml (capuchon rouge).
  - Laisser coaguler à la température de la salle environ 20 à 30 minutes avant de le centrifuger.
- Préparation et envoi de l'échantillon
  - Centrifuger le sang au cycle préétabli sur la centrifugeuse, récolter le sérum à l'aide d'une pipette et le transférer dans les tubes fournis par CRL. Diluer le sérum avec PBS (1/4). Congeler le tout.
  - Envoyer ensuite à CRL pour analyse de niveau «Assessment plus®». L'envoi doit se faire avec blocs réfrigérants pour maintenir le sérum congelé.
  - Remplir le formulaire de CRL pour analyse et faire 3 copies. Ne pas oublier d'indiquer le numéro de bon de commande à l'endroit approprié.

## PROGRAMME DE SENTINELLES

---

- Conserver le sérum non utilisé au congélateur jusqu'à deux ans après son prélèvement.

### Recherche d'oxyure (pinworm) à l'aide du ruban adhésif

- Appliquer du ruban adhésif sur l'anus de chaque animal et vérifier au microscope la présence ou non d'oxyure. Faire le test tôt le matin, idéalement dès que les lumières s'ouvrent.

### Coprologie par flottation et centrifugation,

- en utilisant le contenu du caecum et du colon de l'animal euthanasié.

### Grattages cutanés :

- à l'aide d'une lame de scalpel et d'huile minérale effectuer un grattage cutané dans la région cervicale caudale et interscapulaire et dorsale caudale (au niveau des hanches).
- examiner le résultat du raclage cutané au microscope entre lame et lamelle.

### Nécropsie rapide de l'animal euthanasié:

- Vérifier l'état général de chaque animal et noter les signes cliniques s'il y a lieu.
- Évaluer chaque organe, prélever les organes démontrant des anomalies, les mettre dans une solution tamponnée de formaline 10% (1 vol de tissu pour 9 vol de formaline).
- Prélèvements et congélation des ganglions mésentériques.
- Placer les carcasses au congélateur.

### Bactériologie :

- Un rat sentinelle est expédié vivant, à l'université McGill pour analyse bactériologique du système respiratoire supérieur et inférieur.

Si le test Assessment plus® s'avère positif pour un des pathogènes, soumettre les ganglions mésentériques de l'animal concerné à une analyse par PCR à CRL pour confirmer ou infirmer ce résultat.

## 8. PROGRAMME DETAILLE : SOURIS

### 8.1 Souris gardées en hébergement standard

#### 8.1.1 Achat des animaux

**Deux semaines avant la date prévue des tests trimestriels**, le technicien animalier commande des souris de souche CD-1, femelles, de CRC, de poids corporel de 13 à 15 grammes ou de 23 à 25 jours. Les sentinelles sont hébergées en groupe de trois par cage.

#### 8.1.2 Analyses effectuées

8.1.2.1 Trois et neuf mois après le début du cycle de surveillance (juin et décembre) :

##### **Test Prevalent®**

- Peser les souris.



## PROGRAMME DE SENTINELLES

---

- La récolte de sang pour le test peut se faire de 2 façons, par exsanguination pour analyse de sérum ou par prélèvement d'une goutte de sang lorsque le Hematip® est utilisé :
  - Exsanguination des souris sous anesthésie générale à l'isoflurane.  
Ponction cardiaque sous anesthésie
    - Anesthésie de l'animal.
    - Vérifier la profondeur de l'anesthésie avant de prélever le sang, en pinçant la patte arrière de l'animal et la queue.
    - Utiliser une seringue 3 ml et une aiguille 21Gx1½" pour ponctionner le sang directement dans le cœur, sous le thorax, avec un angle de 45 degrés. Prélever environ 1-1.5 ml de sang.
    - Transférer le sang récolté dans un tube de 2 ml (capuchon rouge).
    - Laisser coaguler à la température de la salle environ 20 à 30 minutes avant de le centrifuger.
  - Préparation et envoi de l'échantillon
    - Centrifuger le sang au cycle préétabli sur la centrifugeuse, récolter le sérum à l'aide d'une pipette et le transférer dans les tubes fournis par CRL. Diluer le sérum avec PBS (1/4). Congeler le tout.
    - Envoyer ensuite à CRL pour analyse de niveau «Prevalent». L'envoi doit se faire avec blocs réfrigérants pour maintenir le sérum congelé.
    - Remplir le formulaire de CRL pour analyse et faire 3 copies. Ne pas oublier d'indiquer le numéro de bon de commande à l'endroit approprié.
    - Conserver le sérum non utilisé au congélateur jusqu'à deux ans après son prélèvement.
- Hematip® :
  - Sous anesthésie générale, ou en utilisant une technique de contention adéquate, prélever un minimum de 25 µl (1 goutte) de sang et saturer l'éponge au bout de l'Hematip®.
  - Identifier les échantillons inscrivant l'information sur une étiquette à apposer sur l'Hematip®.
  - Placer l'Hematip dans son étui de plastique et laisser l'échantillon de sang sécher, avant de refermer le contenant en plastique. Garder au réfrigérateur jusqu'à l'envoi.

### Recherche d'oxyure (pinworm), Hélicobacter et de mites cutanées par PCR :

- **Ne jamais mélanger les types d'échantillon à analyser.**
- Recherche oxyure et Helicobacter :

Des excréments frais sont récoltés des animaux, ou dans les cages des animaux sentinelles, pour vérifier la présence par PCR d'oxyure et d'Helicobacter. Un maximum de 10 boulettes fécales peuvent être prélevées pour constituer un échantillon. Un seul échantillon est soumis pour représenter tous les rats de l'animalerie.
- Recherche de parasites externes :

À l'aide d'un écouvillon collant fourni par Charles Rivers Laboratories (Pink Sticky Swab), échantillonner en frottant la peau à rebrousse-poil la région des

## PROGRAMME DE SENTINELLES

---

oreilles, sous le menton, à la base du cou (dorsalement), à la base de la queue et la région inguinale.

Ne garder que la tête de l'écouvillon.

Un maximum de 10 têtes d'écouvillon peuvent être prélevées pour constituer un échantillon. Un seul échantillon est soumis pour représenter tous les rats de l'animalerie.

### **Nécropsie rapide si le sang a été prélever par exsanguination :**

- Vérifier l'état général de chaque animal et noter les signes cliniques s'il y a lieu.
- Évaluer chaque organe, prélever les organes démontrant des anomalies, les mettre dans une solution tamponnée de formaline 10% (1 vol de tissus pour 9 vol de formaline).
- Prélèvements et congélation des ganglions mésentériques.
- Placer les carcasses au congélateur.

Si le test Prevalent® s'avère positif pour un des pathogènes, soumettre les ganglions mésentériques de l'animal concerné à une analyse par PCR à CRL pour confirmer ou infirmer ce résultat.

#### 8.1.2.2 Six mois après le début du cycle de surveillance (septembre)

##### **Test Prevalent®**

- Peser les souris.
- La récolte de sang pour le test peut se faire de 2 façons, par exsanguination pour analyse de sérum ou par prélèvement d'une goutte de sang lorsque le Hematip® est utilisé :

##### **Coprologie par flottation et centrifugation,**

- en utilisant le contenu du caecum et du colon de l'animal euthanasié ou en utilisant des fèces fraîches récoltées de l'animal et dans la cage.

##### **Grattages cutanés :**

- à l'aide d'une lame de scalpel et d'huile minérale effectuer un grattage cutané dans la région cervicale caudale et interscapulaire et dorsale caudale (au niveau des hanches).
- examiner le résultat du raclage cutané au microscope entre lame et lamelle.

##### **Nécropsie rapide de l'animal euthanasié:**

- Vérifier l'état général de chaque animal et noter les signes cliniques s'il y a lieu.
- Évaluer chaque organe, prélever les organes démontrant des anomalies, les mettre dans une solution tamponnée de formaline 10% (1 vol de tissus pour 9 vol de formaline).
- Prélèvements et congélation des ganglions mésentériques.
- Placer les carcasses au congélateur.

Si le test Prevalent® s'avère positif pour un des pathogènes, soumettre les ganglions mésentériques de l'animal concerné à une analyse par PCR à CRL pour confirmer ou infirmer ce résultat.

#### 8.1.2.2 Douze mois après le début du cycle du programme de surveillance (mars)

##### **Test Assessment plus®**

## PROGRAMME DE SENTINELLES

---

- Peser les souris.
- Exsanguination d'au moins une souris sous anesthésie générale à l'isoflurane.
  - Ponction cardiaque sous anesthésie
  - Transférer le sang récolté (1 à 1.5 ml) dans un tube de 2 ml (capuchon rouge).
  - Laisser coaguler à la température de la salle environ 20 à 30 minutes avant de le centrifuger.
- Préparation et envoi de l'échantillon
  - Centrifuger le sang au cycle préétabli sur la centrifugeuse, récolter le sérum à l'aide d'une pipette et le transférer dans les tubes fournis par CRL. Diluer le sérum avec PBS (1/4). Congeler le tout.
  - Envoyer ensuite à CRL pour analyse de niveau «Assessment plus®». L'envoi doit se faire avec blocs réfrigérants pour maintenir le sérum congelé.
  - Remplir le formulaire de CRL pour analyse et faire 3 copies. Ne pas oublier d'indiquer le numéro de bon de commande à l'endroit approprié.
  - Conserver le sérum non utilisé au congélateur jusqu'à deux ans après son prélèvement.

### Recherche d'oxyure (pinworm) à l'aide du ruban adhésif

- Appliquer du ruban adhésif sur l'anus de chaque animal et vérifier au microscope la présence ou non d'oxyure. Faire le test tôt le matin, idéalement dès que les lumières s'ouvrent.

### Grattages cutanés :

- à l'aide d'une lame de scalpel et d'huile minérale effectuer un grattage cutané dans la région cervicale caudale et interscapulaire et dorsale caudale (au niveau des hanches).
- examiner le résultat du raclage cutané au microscope entre lame et lamelle.

### Coprologie par flottation et centrifugation,

- en utilisant le contenu du caecum et du colon de l'animal euthanasié.

### Nécropsie rapide de l'animal euthanasié:

- Vérifier l'état général de chaque animal et noter les signes cliniques s'il y a lieu.
- Évaluer chaque organe, prélever les organes démontrant des anomalies, les mettre dans une solution tamponnée de formaline 10% (1 vol de tissus pour 9 vol de formaline).
- Prélèvements et congélation des ganglions mésentériques.
- Placer les carcasses au congélateur.

Si le test Assessment plus® s'avère positif pour un des pathogènes, soumettre les ganglions mésentériques de l'animal concerné à une analyse par PCR à CRL pour confirmer ou infirmer ce résultat.

### Bactériologie

- Une souris sentinelle est expédiée vivante, à l'université McGill pour analyse bactériologique du système respiratoire supérieur et inférieur.

## 8.2 Souris gardées en hébergement en microisolateurs stériles

### 8.2.1 Achat des animaux

## PROGRAMME DE SENTINELLES

---

**Deux semaines avant la date prévue des tests trimestriels**, le technicien animalier commande des souris de souche CD-1, femelles, de CRC, de poids corporel de 13 à 15 grammes ou de 23 à 25 jours. Les sentinelles sont hébergées en groupe de trois par cage ventilée.

### 8.2.2 Analyses effectuées

8.2.2.1 Trois mois et neuf après le début du cycle du programme de sentinelle (juin et décembre)

#### **Test Prevalent®**

- Peser les souris.
- La récolte de sang pour le test peut se faire de 2 façons, par exsanguination pour analyse de sérum ou par prélèvement d'une goutte de sang lorsque l'Hematip® est utilisé :
  - Exsanguination des souris sous anesthésie générale à l'isoflurane.  
Ponction cardiaque sous anesthésie
    - Anesthésie de l'animal.
    - Vérifier la profondeur de l'anesthésie avant de prélever le sang, en pinçant la patte arrière de l'animal et la queue.
    - Utiliser une seringue 3 ml et une aiguille 21Gx1½" pour ponctionner le sang directement dans le cœur, sous le thorax, avec un angle de 45 degrés. Prélever environ 1-1.5 ml de sang.
    - Transférer le sang récolté dans un tube de 2 ml (capuchon rouge).
    - Laisser coaguler à la température de la salle environ 20 à 30 minutes avant de le centrifuger.
  - Préparation et envoi de l'échantillon
    - Centrifuger le sang au cycle préétabli sur la centrifugeuse, récolter le sérum à l'aide d'une pipette et le transférer dans les tubes fournis par CRL. Diluer le sérum avec PBS (1/4).  
Congeler le tout.
    - Envoyer ensuite à CRL pour analyse de niveau «Prevalent». L'envoi doit se faire avec blocs réfrigérants pour maintenir le sérum congelé.
    - Remplir le formulaire de CRL pour analyse et faire 3 copies. Ne pas oublier d'indiquer le numéro de bon de commande à l'endroit approprié.
    - Conserver le sérum non utilisé au congélateur jusqu'à deux ans après son prélèvement.
- Hematip® :
  - Sous anesthésie générale, ou en utilisant une technique de contention adéquate, prélever un minimum de 25 µl (1 goutte) de sang et saturer l'éponge au bout de l'Hematip®.
  - Identifier les échantillons inscrivant l'information sur une étiquette à apposer sur l'Hematip®.
  - Placer l'Hematip dans son étui de plastique et laisser l'échantillon de sang sécher, avant de refermer le contenant en plastique. Garder au réfrigérateur jusqu'à l'envoi.

**Recherche d'oxyure (pinworm), Hélicobacter et de mites cutanées par PCR :**

## PROGRAMME DE SENTINELLES

---

**- Ne jamais mélanger les types d'échantillon à analyser.**

- Recherche oxyure et Helicobacter :

Des excréments frais sont récoltés des animaux, ou dans les cages des animaux sentinelles, pour vérifier la présence par PCR d'oxyure et d'Helicobacter.

Un maximum de 10 boulettes fécales peuvent être prélevées pour constituer un échantillon. Un seul échantillon est soumis pour représenter toutes les souris de l'animalerie.

- Recherche de parasites externes :

À l'aide d'un écouvillon collant fourni par Charles Rivers Laboratories (Pink Sticky Swab), échantillonner en frottant la peau à rebrousse-poil la région des oreilles, sous le menton, à la base du cou (dorsalement), à la base de la queue et la région inguinale.

Ne garder que la tête de l'écouvillon.

Un maximum de 10 têtes d'écouvillon peuvent être prélevées pour constituer un échantillon. Un seul échantillon est soumis pour représenter toutes les souris de l'animalerie.

**Nécropsie rapide si le sang a été prélevé par exsanguination :**

- Vérifier l'état général de chaque animal et noter les signes cliniques s'il y a lieu.
- Évaluer chaque organe, prélever les organes démontrant des anomalies, les mettre dans une solution tamponnée de formaline 10% (1 vol de tissu pour 9 vol de formaline).
- Prélèvements et congélation des ganglions mésentériques.
- Placer les carcasses au congélateur.

Si le test Prevalent® s'avère positif pour un des pathogènes, soumettre les ganglions mésentériques de l'animal concerné à une analyse par PCR à CRL pour confirmer ou infirmer ce résultat.

### 8.2.2.2 Six mois après le début du cycle du programme de sentinelle (septembre)

**Test Tracking®**

- Peser les souris.
- La récolte de sang pour le test peut se faire de 2 façons, par exsanguination pour analyse de sérum ou par prélèvement d'une goutte de sang lorsque le Hematip® est utilisé :

**Coprologie par flottation et centrifugation,**

- en utilisant le contenu du caecum et du colon de l'animal euthanasié ou en utilisant des fèces fraîches récoltées de l'animal et dans la cage.

**Grattages cutanés :**

- à l'aide d'une lame de scalpel et d'huile minérale effectuer un grattage cutané dans la région cervicale caudale et interscapulaire et dorsale caudale (au niveau des hanches).
- examiner le résultat du raclage cutané au microscope entre lame et lamelle.

**Nécropsie rapide de l'animal euthanasié:**

## PROGRAMME DE SENTINELLES

---

- Vérifier l'état général de chaque animal et noter les signes cliniques s'il y a lieu.
- Évaluer chaque organe, prélever les organes démontrant des anomalies, les mettre dans une solution tamponnée de formaline 10% (1 vol de tissu pour 9 vol de formaline).
- Prélèvements et congélation des ganglions mésentériques.
- Placer les carcasses au congélateur.

Si le test Tracking® s'avère positif pour un des pathogènes, soumettre les ganglions mésentériques de l'animal concerné à une analyse par PCR à CRL pour confirmer ou infirmer ce résultat.

### 8.2.2.3 Douze mois après le début du cycle du programme de sentinelle (mars)

#### **Test Assessment plus®**

- Peser les souris.
- Exsanguination d'au moins une souris sous anesthésie générale à l'isoflurane.
  - Ponction cardiaque sous anesthésie
  - Transférer le sang récolté (1 à 1.5 ml) dans un tube de 2 ml (capuchon rouge).
  - Laisser coaguler à la température de la salle environ 20 à 30 minutes avant de le centrifuger.
- Anesthésie à l'isoflurane et prélèvement sanguin d'une souris sentinelle
  - Prélèvement d'environ 0.2 ml de sang par la veine sous-clavière.
  - Transférer le sang récolté dans un tube de 1 ml (capuchon rouge).
  - Laisser coaguler à la température de la salle environ 20 à 30 minutes avant de le centrifuger.
  - Laisser la souris se réveiller.
- Préparation et envoi de l'échantillon
  - Centrifuger le sang au cycle préétabli sur la centrifugeuse, récolter le sérum à l'aide d'une pipette et le transférer dans les tubes fournis par CRL. Diluer le sérum avec PBS (1/4). Congeler le tout.
  - Envoyer ensuite à CRL pour analyse de niveau «Assessment plus®». L'envoi doit se faire avec blocs réfrigérants pour maintenir le sérum congelé.
  - Remplir le formulaire de CRL pour analyse et faire 3 copies. Ne pas oublier d'indiquer le numéro de bon de commande à l'endroit approprié.
  - Conserver le sérum non utilisé au congélateur jusqu'à deux ans après son prélèvement.

#### **Recherche d'oxyure (pinworm) à l'aide du ruban adhésif**

- Appliquer du ruban adhésif sur l'anus de chaque animal et vérifier au microscope la présence ou non d'oxyure. Faire le test tôt le matin, idéalement dès que les lumières s'ouvrent.

#### **Grattages cutanés :**

- à l'aide d'une lame de scalpel et d'huile minérale effectuer un grattage cutané dans la région cervicale caudale et interscapulaire et dorsale caudale (au niveau des hanches).
- examiner le résultat du raclage cutané au microscope entre lame et lamelle.

#### **Coprologie par flottation et centrifugation,**

- en utilisant le contenu du caecum et du colon de l'animal euthanasié.

## PROGRAMME DE SENTINELLES

---

### **Nécropsie rapide de l'animal euthanasié:**

- Vérifier l'état général de chaque animal et noter les signes cliniques s'il y a lieu.
- Évaluer chaque organe, prélever les organes démontrant des anomalies, les mettre dans une solution tamponnée de formaline 10% (1 vol de tissus pour 9 vol de formaline).
- Prélèvements et congélation des ganglions mésentériques.
- Placer les carcasses au congélateur.

### **Bactériologie :**

- Une souris sentinelle non euthanasiée est expédiée vivante, à l'université McGill pour analyse bactériologique du système respiratoire supérieur et inférieur.

Si le test Assessment plus® s'avère positif pour un des pathogènes, soumettre les ganglions mésentériques de l'animal concerné à une analyse par PCR à CRL pour confirmer ou infirmer ce résultat.

## 9. PROGRAMME DETAILLE : HAMSTERS

### 9.1 Achat d'animaux

Les hamsters sentinelles sont de souche syrienne dorée et proviennent de CRC.

**Deux semaines avant la date prévue des tests trimestriels**, le technicien animalier commande un minimum de 4 hamsters de souche syrien doré, LVG, mâles, de CRC, de poids corporel de 90 à 100 grammes. Dans ce cas-ci des mâles sont préférés aux femelles parce que ces dernières sont reconnues pour leur agressivité.

Les sentinelles peuvent être hébergées deux par cage au début mais il importe d'être très attentif car de l'agressivité extrême peut se développer avec l'âge chez cette espèce. Il faut éviter les changements de partenaires.

### 9.2 Analyses effectuées

9.2.1 Aux trois (3) mois, suivant le début du cycle du programme de sentinelles (juin, septembre et décembre)

#### **Test Assessment®**

- Peser les hamsters.
- Exsanguination des hamsters sous anesthésie générale à l'isoflurane.
  - Ponction cardiaque sous anesthésie
    - Anesthésie de l'animal.
    - Vérifier la profondeur de l'anesthésie avant de prélever le sang, en pinçant la patte arrière de l'animal.
    - Utiliser une seringue 3 ml et une aiguille 21Gx1½" pour ponctionner le sang directement dans le cœur, sous le thorax, avec un angle de 45 degrés. Prélever environ 2 ml de sang.
    - Transférer le sang récolté dans un tube de 2 ml (capuchon rouge).
    - Laisser coaguler à la température de la salle environ 20 à 30 minutes avant de le centrifuger.
- Préparation et envoi de l'échantillon
  - Centrifuger le sang au cycle préétabli sur la centrifugeuse, récolter le sérum à l'aide d'une pipette et le transférer dans les tubes fournis par CRL. Diluer le sérum avec PBS (1/4).

## PROGRAMME DE SENTINELLES

---

Congeler le tout.

- Envoyer ensuite à CRL pour analyse de niveau «Assessment». L'envoi doit se faire avec blocs réfrigérants pour maintenir le sérum congelé.
- Remplir le formulaire de CRL pour analyse et faire 3 copies. Ne pas oublier d'indiquer le numéro de bon de commande à l'endroit approprié.
- Conserver le sérum non utilisé au congélateur jusqu'à deux ans après son prélèvement.

### Recherche d'oxyure (pinworm) à l'aide du ruban adhésif

- Appliquer du ruban adhésif sur l'anus de chaque animal et vérifier au microscope la présence ou non d'oxyure. Faire le test tôt le matin.

### Grattages cutanés :

- à l'aide d'une lame de scalpel et d'huile minérale effectuer un grattage cutané dans la région cervicale caudale et interscapulaire et dorsale caudale (au niveau des hanches).
- examiner le résultat du raclage cutané au microscope entre lame et lamelle.

### Coprologie par flottation et centrifugation,

- en utilisant le contenu du caecum et du colon.

### Nécropsie rapide :

- Vérifier l'état général de chaque animal et noter les signes cliniques s'il y a lieu.
- Évaluer chaque organe, prélever les organes démontrant des anomalies, le mettre dans une solution tamponnée de formaline 10% (1 vol de tissus pour 9 vol de formaline).
- Prélèvements et congélation des ganglions mésentériques.
- Placer les carcasses au congélateur.

Si le test Assessment® s'avère positif pour un des pathogènes, soumettre les ganglions mésentériques de l'animal concerné à une analyse par PCR à CRL pour confirmer ou infirmer ce résultat.

#### 9.2.1 Douze mois après le début du cycle de surveillance (mars) :

##### Test Assessment®

- Peser les hamsters.
- Exsanguination de deux hamsters sous anesthésie générale à l'isoflurane.
  - Ponction cardiaque sous anesthésie
  - Transférer le sang récolté (2ml) dans un tube de 2 ml (capuchon rouge).
  - Laisser coaguler à la température de la salle environ 20 à 30 minutes avant de le centrifuger.
- Préparation et envoi de l'échantillon
  - Centrifuger le sang au cycle préétabli sur la centrifugeuse, récolter le sérum à l'aide d'une pipette et le transférer dans les tubes fournis par CRL. Diluer le sérum avec PBS (1/4).  
Congeler le tout.
  - Envoyer ensuite à CRL pour analyse de niveau «Assessment®». L'envoi doit se faire avec blocs réfrigérants pour maintenir le sérum congelé.
  - Remplir le formulaire de CRL pour analyse et faire 3 copies. Ne pas oublier d'indiquer le numéro de bon de commande à l'endroit approprié.



## PROGRAMME DE SENTINELLES

---

- Conserver le sérum non utilisé au congélateur jusqu'à deux ans après son prélèvement.

### **Recherche d'oxyure (pinworm) à l'aide du ruban adhésif**

- Appliquer du ruban adhésif sur l'anus de chaque animal et vérifier au microscope la présence ou non d'oxyure. Faire le test tôt le matin, idéalement dès que les lumières s'ouvrent.

### **Grattages cutanés :**

- à l'aide d'une lame de scalpel et d'huile minérale, effectuer un grattage cutané dans la région cervicale caudale et interscapulaire et dorsale caudale (au niveau des hanches).
- examiner le résultat du raclage cutané au microscope entre lame et lamelle.

### **Coprologie par flottation et centrifugation,**

- en utilisant le contenu du caecum et du colon de l'animal euthanasié.

### **Nécropsie rapide de l'animal euthanasié:**

- Vérifier l'état général de chaque animal et noter les signes cliniques s'il y a lieu.
- Évaluer chaque organe, prélever les organes démontrant des anomalies, les mettre dans une solution tamponnée de formaline 10% (1 vol de tissu pour 9 vol de formaline).
- Prélèvements et congélation des ganglions mésentériques.
- Placer les carcasses au congélateur.

Si le test Assessment® s'avère positif pour un des pathogènes, soumettre les ganglions mésentériques de l'animal concerné à une analyse par PCR à CRL pour confirmer ou infirmer ce résultat.

### **Bactériologie :**

- Un hamster sentinelle non euthanasié est expédié vivant, à l'université McGill pour analyse bactériologique du système respiratoire supérieur, inférieur et du système digestif.

## 10. PROGRAMME DÉTAILLÉ : COBAYE

Pour les cobayes, les sentinelles utilisées sont des cobayes. Les souris de souche CD1 ne sont plus utilisées pour détecter la présence de Sendaï.

### 10.1 Achat des animaux

**Deux semaines avant la date prévue des tests trimestriels**, le technicien animalier commande généralement quatre (4) cobayes de souche Hartley, femelles, de CRC, de poids corporel de 200 à 300 grammes. Les sentinelles sont hébergées en groupe de deux par cage.

### 10.2 Analyses effectuées

#### 11.2.1 Cobayes sentinelles :

Voir programme de hamsters (point 9)

## PROGRAMME DE SENTINELLES

---

### BIBLIOGRAPHIE :

CHARLES RIVER LABORATORIES. «Serologic Testing to Monitor Rodents for Viral Infections : Interpretation of Results», *Technical Bulletin*, Charles River Laboratories, automne 1990, 8 p.

CHARLES RIVER LABORATORIES. «Serologic Testing to Monitor Rodents for Viral and Mycoplasma Infection», *Technical Bulletin*, Charles River Laboratories, printemps 1991, 8 p.

CHARLES RIVER LABORATORIES. «A Laboratory Animal Health Monitoring Program: Rationale and Development», *Technical Bulletin*, Charles River Laboratories, hiver 1980, 4 p.

PRITCHETT-CORNING, K, & al. Companion Guide to Rodent Health Surveillance for Research Facilities, Charles River Laboratories, October 2009

FEDERATION OF EUROPEAN LABORATORY ANIMAL SCIENCE ASSOCIATION. «FELASA recommendations for the health monitoring of mouse, rat, hamster, gerbil, guinea pig and rabbit experimental units», *Laboratory Animals*, vol. 30, no 2, 1996, p. 193-208.

FEDERATION OF EUROPEAN LABORATORY ANIMAL SCIENCE ASSOCIATION. «Recommendations for the health monitoring of mouse, rat, hamster, guinea pig and rabbit breeding colonies», *Laboratory Animals*, vol. 28, no 1, 1994, p. 1-12.

WORKING GROUP ON REFINEMENT (BVA/FRAME/RSPCA/UFAW). «Removal of blood from laboratory mammals and birds», *Laboratory animals*, vol. 27, no. 1, 1993, p. 1-22.

### ANNEXES :

- TEC-01A : «Liste des analyses effectuées par espèce»
- TEC-01B : «Programme de sentinelles, rapport sommaire»
- TEC-01C : «Affiche contamination des sentinelles»
- TEC-01R : «Programme de sentinelles, Résumé»

**PROGRAMME DE SENTINELLES**

**APPROBATION :**

|   |               |
|---|---------------|
|  | 20-07-22      |
| _____<br>Directrice   | _____<br>Date |
|  | 20-07-22      |
| _____<br>Chef des services vétérinaires   | _____<br>Date |
|  | 20-07-22      |
| _____<br>Responsable des soins animaliers   | _____<br>Date |

**SOU MIS AU CDEA :**    Date : \_\_\_\_\_

**DATES DE MODIFICATION (+initiales):**

|  |  |  |
|--|--|--|
| 1998-05-06<br>1999-04-15<br>2000-03-26<br>2000-04-25<br>2003-10-09<br>2003-10-10 | 2007-02-26<br>2009-09-02<br>2010-03-01 SM<br>2010-09-20 SM<br>2012-03-29 SM<br>2012-03-30 SM | 2015-05-25 SM<br>2016-01-20 SM<br>2020-02-10 RS<br>2020-02-11 SM<br>2020-07-22 form CL |
|--|--|--|