

FORMATION DE BASE RONGEURS : NOTES DE COURS

Vous assisterez sous peu à une formation de base avec le rat ou la souris. Voici quelques notes de cours à lire avant la formation pour mieux vous préparer à celle-ci. **Sachez que vous devez avant toute chose avoir complété et réussi l'évaluation de la formation théorique pour assister à la formation pratique.**

Au-delà du comment une technique s'effectue, il y a d'importants détails que vous devez toujours garder à l'esprit lorsque vous travaillez avec les animaux de laboratoire. Après cette formation, deux dénouements sont possibles, soit :

- Échec : vous avez besoin de plus de pratique pour effectuer la procédure avec assurance, vous devrez alors revenir pour une autre formation.
- Réussite : vous comprenez et effectuez la technique avec assurance et sans difficulté, vous êtes apte à la refaire seul.

Dans le but d'assurer la sécurité de la personne et des animaux ainsi que le bon déroulement des protocoles, nous nous réservons le droit de refuser de donner à maintes et maintes reprises les formations à toute personne jugée inapte à travailler avec des animaux (stress, nervosité, agressivité ou autres comportements jugés inacceptables).

Voici le nom des personnes à qui vous devez vous adresser si vous avez besoin d'aide en animalerie, une fois la formation terminée :

CENTRE RECHERCHE	CONTACT	COURRIEL	TÉLÉPHONE
Université Laval	Daphnée Veilleux-Lemieux	daphnee.veilleux-lemieux@vrr.ulaval.ca	418-656-2131 #7460
CRIUSMQ	Mélanie Roy Isabelle Cadoret	melanie.roy@crulrg.ulaval.ca isabelle.cadoret@crulrg.ulaval.ca	418-663-5747 #6872 418-663-5747 #6856
CRIUCPQ	Justin Robillard	justin.robillard@criucpq.ulaval.ca	418-656-8711 #5396

1. GÉNÉRALITÉS

1.1 L'éthique

Lorsque vous travaillez avec les animaux de laboratoire, il est important de vous rappeler que c'est **un privilège que vous avez** et que vous devez traiter les animaux avec respect et douceur. Pour se faire, vous devez être formés adéquatement pour effectuer chaque technique afin que l'inconfort et le stress ressenti par l'animal soient minimaux. Un animal moins stressé donnera de meilleurs résultats expérimentaux. Cette formation doit être donnée **uniquement** par un technicien en santé animale de l'Université Laval ou de ses centres affiliés. Il n'est pas permis d'apprendre une technique auprès des membres de votre équipe, à moins que la technique soit développée et pratiquée uniquement par votre équipe. Ceci ne pourrait qu'amener des complications telles que : dossier de formation non complétée, technique mal enseignée, non-conformité avec le CCPA.

Aussi, assurez-vous que toutes les manipulations que vous effectuez sur les animaux sont incluses dans le protocole et donc, approuvées par le comité de protection des animaux. Si la manipulation n'est pas incluse au protocole, vous ne pouvez pas la faire et devez aviser votre supérieur immédiat de la situation. Une seule exception à cette règle s'applique : lorsqu'un animal nécessite des soins vétérinaires qui n'étaient pas prévus.

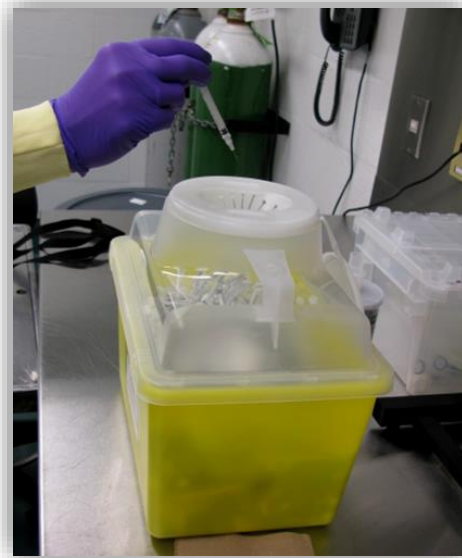
Finalement, lorsque vous travaillez avec les animaux, il est primordial d'être honnête envers vous-même et votre équipe quant à votre capacité à effectuer la procédure. Si vous ne vous sentez pas à l'aise de la faire, il est de votre devoir d'informer votre équipe que vous avez besoin d'aide, ou encore que vous désirez être reformé (dans les deux cas, aide apportée par un technicien en santé animale de l'Université Laval ou de ses centres affiliés). Ceci assure d'une part le bien-être des animaux, en s'assurant que les personnes qui les manipulent sont compétentes, et d'autre part des résultats expérimentaux valables, puisque la procédure a été effectuée dans les meilleures conditions possible. Il est préférable de planifier la formation en fonction des dates de début de protocole. Par exemple : ne pas suivre la formation longtemps d'avance avant le début prévu des protocoles (ex. : 1 an). Le cas échéant, il est possible de reprendre rendez-vous afin de recevoir à nouveau la formation.

1.2 Santé & sécurité :

Exigences vestimentaires : lorsque nous travaillons avec les animaux, le masque, les gants et le sarrau ou jaquette sont obligatoires en tout temps. Ces protections sont là pour vous protéger et protéger les animaux.

- Le masque : il doit être jeté à chaque sortie de la pièce et remplacé par un nouveau à l'entrée de la pièce. Il doit également être changé si l'air semble y pénétrer difficilement (la cause peut être une saturation du filtre). Le masque est votre première défense contre les allergies qui sont de plus en plus fréquentes. Il en va de votre santé.
- Les gants : ils doivent être changés aussitôt qu'ils sont endommagés ou qu'ils ont été en contact avec des produits à risque (produit chimique, agent infectieux, produit radioactif, etc.). Certains produits ou leur vapeur peuvent pénétrer les gants et atteindre votre peau. C'est pourquoi il ne faut jamais penser que vos gants sont une protection absolue. Lors de votre arrivée dans une pièce, il faut toujours mettre des gants neufs plutôt que de réutiliser une paire précédemment utilisée qui risque d'être contaminée. Finalement, lorsque vous enlevez vos gants, ne touchez jamais directement l'extérieur des gants avec vos mains puisque l'extérieur des gants est considéré contaminé. Rappelez-vous aussi que le port de gant n'exclut pas le lavage des mains.
- Le sarrau ou jaquette : il doit être porté fermé en tout temps. Chaque sarrau doit être attribué à une pièce spécifique et doit être renouvelé lorsque souillé.
- Dans le but d'éviter la contamination croisée (ex. : boucles d'oreille pendantes) ou le bris de protection vestimentaire (ex. : gants), il est obligatoire d'attacher les cheveux longs et de ne pas porter de bijoux lorsque vous savez que vous allez travailler avec des animaux.
- Lors de transfert d'animaux d'une salle à une autre, l'équipement de protection doit être porté pendant les déplacements si les animaux sont dans des cages sans filtre.

La manipulation d'aiguille nécessite aussi le respect de quelques règles de base qui semblent banales, mais qui peuvent vous éviter plusieurs accidents. Lorsque vous ouvrez une aiguille, faites-le toujours soit à deux mains en appuyant les coudes sur vos hanches pour éviter le réflexe naturel de retour ou avec une seule main. Aussi, il ne faut jamais remettre le capuchon d'une aiguille si ce n'est pas nécessaire. Si la situation l'exige, faites-le avec une seule main pour éviter de vous piquer. N'oubliez pas qu'elle peut contenir des agents infectieux ou des virus et bactéries qui peuvent être dangereux pour votre santé. Finalement, aussitôt utilisées, les aiguilles doivent être jetées dans un contenant biorisque pour objets piquants.



Avant de prendre l'animal dans sa cage, prenez le temps d'observer son comportement pour détecter s'il est craintif, nerveux, etc. Adaptez vos manipulations à l'état de l'animal. N'oubliez pas que les rongeurs sont des espèces proies dans la nature, ce qui explique un comportement plus craintif lorsqu'ils n'ont pas l'habitude d'être manipulés.

Si malgré vos précautions vous vous piquez ou vous faites mordre, faites saigner un peu la plaie, nettoyer avec un savon doux pendant 15 minutes et rincer. Appliquer un bandage afin de recouvrir la plaie. N'oubliez pas de remplir un rapport d'accident immédiatement et de le remettre à la personne responsable. Lorsque des matières dangereuses sont impliquées, les techniques de premiers soins peuvent être plus spécifiques.

1.3 Documentation

Toutes les procédures et observations que vous effectuez sur les animaux doivent être documentées. Une fois l'expérimentation terminée, ces informations doivent être conservées pendant un an. Informez-vous auprès des techniciens du centre de recherche afin de savoir comment documenter ces informations et où les conserver à la fin du projet.

2. IDENTIFICATION ET SEXAGE

2.1 Identification

Plusieurs méthodes d'identification sont disponibles pour les rongeurs. Le choix se fait en fonction de l'espèce, selon le budget et selon les besoins du protocole. Chaque méthode comporte des avantages et des inconvénients.

Tableau 1 : Avantages et inconvénients des méthodes d'identification

Méthode d'identification	Avantages	Inconvénients
Carton de cage	<ul style="list-style-type: none">- Indolore- Obligatoire pour toutes les cages de rongeurs- Permet l'inscription de : sexe, âge, source, protocole...	-----
Crayon non toxique sur la queue	<ul style="list-style-type: none">- Indolore- Simple, facile à effectuer et non dispendieux	<ul style="list-style-type: none">- Non permanent
Micropuce	<ul style="list-style-type: none">- Lecture rapide- Permet une identification d'une quantité importante d'animaux	<ul style="list-style-type: none">- Anesthésie recommandée- Très dispendieux
Entailles oreilles	<ul style="list-style-type: none">- Permet le génotypage- Relativement simple	<ul style="list-style-type: none">- Limité pour le nombre d'identifications- Requier une bonne contention- Peut se refermer- Pas de place pour l'erreur
Tag d'oreille	<ul style="list-style-type: none">- Permet une identification d'une quantité importante d'animaux	<ul style="list-style-type: none">- Peut tomber- Infection possible- Doit être adapté à la croissance de l'animal- Requier une contention de l'animal

2.2 Sexage

La distance entre les organes génitaux et l'anus est plus grande chez le mâle que chez la femelle. Chez les bébés, le sexage est plus difficile à effectuer et il est bon de vérifier à nouveau après 2 semaines.

3. MANIPULATIONS DE BASE

Tableau 2 : Données physiologiques générales

Donnée	Souris	Rat
Comportement	Nocturne, curieuse, mâle adulte peu ou pas sociable	Nocturne, curieux, sociable
Maturité sexuelle	7 semaines	10-12 semaines
Durée de gestation	19-21 jours	20-22 jours
Vie reproductrice	7-8 mois	7-9 mois
T° rectale (°C)	37,5 ± 0,5	37,0 ± 0,5
Fréquence respiratoire	138/minute (moyenne)	92/minute (moyenne)
Fréquence cardiaque	470/minute (moyenne)	350/minute (moyenne)
Consommation d'eau	3-7 ml/jour	20-45 ml/jour
Consommation de nourriture	3-6 g/jour	10-20 g/jour

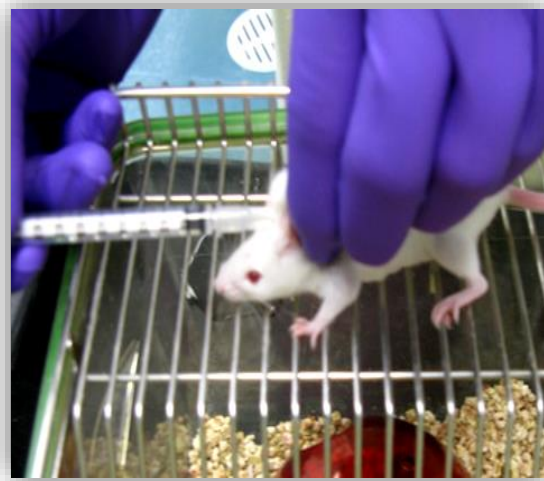
Contention de base chez la souris :



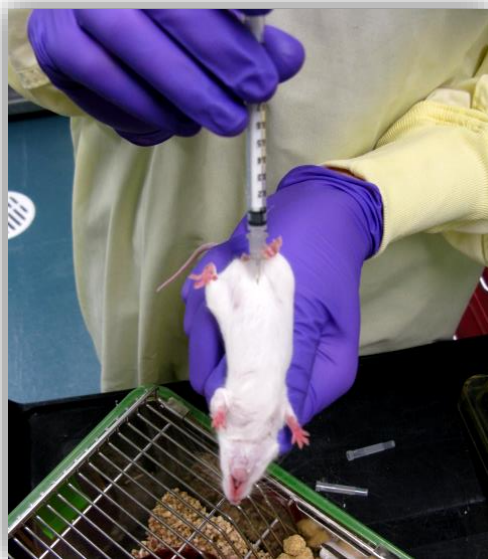
Tableau 3 : Injection chez la souris

Type d'injection	Aiguille	Volume maximal
Sous-cutanée	25G 5/8" ou 27G 1/2"	10 ml/kg
Intrapéritonéale	27G 1/2"	20 ml/kg

Injection sous-cutanée chez la souris :



Injection intra-péritonéale chez la souris :



Contention de base chez le rat :



Tableau 4 : Injection chez le rat

Type d'injection	Aiguille	Volume maximal
Sous-cutanée	23G 3/4" ou 25G 5/8"	5 ml/kg
Intrapéritonéale	25G 5/8"	10 ml/kg

Injection sous-cutanée chez le rat :



Injection intra-péritonéale chez le rat :



3.1 Reconnaissance de douleur

- Si une personne considère qu'un animal souffre ou montre des signes de détresse inacceptables, elle doit en informer le chercheur responsable et le vétérinaire.
- Si les moyens pour enrayer la douleur paraissent insuffisants, la personne peut rapporter l'incident au vétérinaire.
- Les rongeurs sont des espèces proies et tentent de cacher leur douleur par réflexe de protection. C'est pourquoi il ne faut pas banaliser les signes de douleur observés chez ces espèces.
- Les signes observés doivent être mis en contexte afin d'en arriver à une conclusion logique. Dans certains cas, l'expression de ces signes peut s'avérer être normale et attendue (ex. : baisse d'appétit due à l'administration d'un médicament, changement de comportement d'une femelle gestante, etc.).

Signes de douleur communs aux espèces de rongeurs :

- | | |
|-------------------------------------|----------------------------------|
| ➤ Activité diminuée | ➤ Hypersensibilité au toucher |
| ➤ Atrophie musculaire | ➤ Incontinence |
| ➤ Augmentation du rythme cardiaque | ➤ Léchage excessif |
| ➤ Automutilation | ➤ Morsure du site douloureux |
| ➤ Changement comportemental soudain | ➤ Pelage souillé |
| ➤ Convulsions | ➤ Perte d'appétit |
| ➤ Démarche anormale | ➤ Perte d'équilibre |
| ➤ Déshydratation | ➤ Perte de poids |
| ➤ Dos voûté | ➤ Pression élevée |
| ➤ Froid ou chaud au toucher | ➤ Respiration rapide ou profonde |

Tableau 5: Comportements normaux et signes de douleur selon l'espèce

Espèce	Comportements normaux	Signes de douleur
Rat	<ul style="list-style-type: none"> - Curieux - Nocturne - Pelage toiletté - Sociable 	<ul style="list-style-type: none"> - Aplatissement du nez et/ou des joues - Couché sur le côté - Dos voûté - Grognement ou râlement à l'expiration - Isolement - Moustaches éloignées du visage - Oreilles rabassées vers les côtés - Piloérection - Sécrétion excessive de porphyrine* - Vocalisation - Yeux mi-clos ou fermés
Souris	<ul style="list-style-type: none"> - Femelle sociable - Mâle sociable si mis en groupe avant la puberté - Nocturne - Pelage toiletté 	<ul style="list-style-type: none"> - Atrophie musculaire dorsale - Cannibalisme avec les nouveau-nés - Comportement de fuite - Couchée sur le côté - Dos voûté - Gonflement du nez et/ou des joues - Grognement ou râlement à l'expiration - Isolement - Moustaches éloignées du visage - Oreilles rabassées vers l'arrière - Piloérection - Vocalisation - Yeux enfoncés - Yeux mi-clos ou fermés
Hamster	<ul style="list-style-type: none"> - Curieux - Docile sauf s'il est surpris pendant son sommeil - Nocturne - Pelage toiletté - Solitaire 	<ul style="list-style-type: none"> - Augmentation des agressions ou de la dépression - Écoulements oculaires - Périodes de sommeil prolongées - Perte de poils à la queue - Réticence à bouger - Ulcères aux lèvres, aux pieds ou au visage
Cobaye	<ul style="list-style-type: none"> - Docile - Nerveux - Raide aux manipulations 	<ul style="list-style-type: none"> - Absence de résistance à l'immobilisation - Isolement - Perte de poils - Vocalisation au toucher - Yeux enfoncés

3.2 Points limites

Veillez-vous référer à la PNF : ETH-10 et EU-1 afin de prendre connaissance des tous les points limites applicables et des méthodes d'euthanasie possibles. Exemples de points limites : lésions cutanées sur plus de 20% de la surface corporelle ; hémorragie sévère incontrôlée ; perte de poids supérieure à 20 %.

Un point limite est le moment où la douleur et/ou la détresse doivent être arrêtées, minimisées ou réduites. Les traitements doivent être effectués conformément aux directives des vétérinaires afin d'atteindre un de ses objectifs :

- euthanasier l'animal selon la PNF en vigueur ;
- arrêter l'intervention douloureuse ;
- administrer un traitement visant à soulager la douleur ou la détresse ;
- restaurer les exigences de bases (ex. : remettre un animal isolé en hébergement de groupe).

Toute souffrance, détresse ou inconfort réels ou potentiels des animaux devraient être minimisés ou soulagés en choisissant le point limite le plus précoce compatible avec les objectifs scientifiques de la recherche.

La mort comme point final d'une expérience est indésirable. Ce point limite n'est pas accepté par les comités de protection des animaux.

4. ANESTHÉSIE

Le mot anesthésie signifie perte de conscience. Celle-ci peut être partielle comme dans le cas d'une anesthésie locale ou complète comme dans le cas d'une anesthésie générale. Le but d'une anesthésie est d'éliminer la douleur ressentie et/ou d'immobiliser l'animal pour effectuer des manipulations. Dans le milieu de la recherche, les drogues anesthésiques choisies doivent évidemment avoir le moins d'effets possibles sur les paramètres étudiés. Il n'existe malheureusement pas de produit anesthésique ou de combinaison de drogues qui représente le meilleur choix pour toutes les utilisations et aucun n'est efficace et sécuritaire à 100%. Les chercheurs doivent donc, en consultation avec le vétérinaire, choisir le meilleur produit à utiliser selon l'effet anesthésique désiré et selon les effets secondaires jugés acceptables. Le choix se fait en fonction de plusieurs facteurs dont :

- l'animal : âge, poids, état de santé, sexe, souche, etc.;
- la procédure : durée, invasive ou non;

- le laboratoire : équipement et personnel disponibles, formation du personnel;
- suivi post-anesthésie: personnel et équipement disponibles.

L'analgésie quant à elle, signifie l'absence de sensation de douleur. Elle ne provoque donc pas une perte de conscience et diminue la douleur ressentie à différents niveaux selon le produit utilisé.

4.1 Généralités

- Les procédures anesthésiques provoquent de l'hypothermie chez les rongeurs. Il est donc préférable de fournir une source de chaleur pendant la procédure pour contrer cet effet.
- L'anesthésie peut également causer une déshydratation plus ou moins sévère selon l'intervention. L'administration de fluides est fortement recommandée afin de maintenir l'état d'hydratation de l'animal. Les fluides doivent être administrés en début et en fin de procédure.
- Pour éviter un dessèchement de la cornée, n'oubliez pas d'appliquer un onguent ophtalmique en début de procédure.
- Parce que les rongeurs ont un métabolisme élevé et n'ont pas la capacité de vomir, il n'est pas nécessaire de les mettre à jeun avant une anesthésie.

Il existe trois méthodes d'anesthésie pour les rongeurs soient :

- les anesthésiques volatils;
- les anesthésiques à injecter;
- les anesthésiques locaux.

4.2 Les anesthésiques volatils

L'anesthésie par inhalation est généralement faite à l'aide d'isoflurane. L'isoflurane, initialement liquide, est transporté sous forme de vapeur par l'oxygène à l'aide d'un appareil d'anesthésie et peut ainsi être inhalé. La méthode d'anesthésie par inhalation est la **méthode de choix** pour toute anesthésie de rongeur. Cette méthode nous permet de contrôler en tout temps l'apport de gaz anesthésique en fonction de la profondeur d'anesthésie de l'animal et des besoins de la procédure. Il faut d'abord procéder à l'induction dans une chambre d'induction propre (généralement une boîte de Plexiglas®) puis transférer l'animal à un masque préalablement relié à l'appareil d'anesthésie. Bien que l'intubation soit possible chez les rongeurs, elle est très peu pratiquée étant donné leur petite taille et le risque plus élevé de blessure lors de

l'intubation. L'apport en oxygène (litre/minute) ainsi que le pourcentage d'isoflurane doivent être ajustés selon les besoins.

Tableau 6 : Concentration d'oxygène et d'isoflurane

Phase anesthésique	Oxygène (L/minute)	Isoflurane (%)
Induction	0,8-1,5 par station	4 ²
Maintien	0,4-0,8 par station	2 ²
Réveil	0,5 → 0 ¹ par station	0

¹ Fermer l'apport en isoflurane et permettre à l'animal de respirer 100% d'oxygène pendant 20 à 30 secondes.

² Pourcentage à ajuster selon les besoins.

Bien entendu, le personnel doit prendre quelques précautions afin de ne pas inhaler les gaz anesthésiques. Une vérification de l'étanchéité de l'appareil d'anesthésie et de la date d'expiration de sa dernière calibration devrait être faite avant d'utiliser celui-ci. Le personnel devrait travailler avec un système d'évacuation des gaz ou au minimum avec des granules de charbon absorbantes reliées à la sortie des gaz. Si vous utilisez un contenant de granules absorbantes, assurez-vous qu'il soit efficace. Le contenant doit être pesé en grammes avant chaque utilisation et doit être jeté quand son poids aura augmenté de plus de 50 g du poids initial. Si vous n'avez pas de balance, il est possible d'inscrire les heures d'utilisation et de jeter le contenant après 12 heures d'utilisation.

Bien qu'aucune étude effectuée sur les animaux ne démontre l'incidence de l'inhalation d'isoflurane sur un fœtus, il semble que le nombre de fausses couches chez les femmes y étant exposées soit plus élevé que la normale. Si vous êtes enceinte, il est important d'en informer votre supérieur.

4.3 Les anesthésiques à injecter

L'anesthésie aux injectables est généralement utilisée pour les procédures mineures ou de courtes durées. Elle peut également être choisie lorsque la méthode par inhalation nuit aux objectifs de l'expérimentation. Cette méthode d'anesthésie est beaucoup moins sécuritaire pour l'animal puisque la profondeur d'anesthésie et les effets secondaires sont moins prévisibles. La durée d'anesthésie suite à une injection peut varier d'un animal à l'autre ce qui demande un suivi rigoureux de la profondeur anesthésique. De plus, le réveil se fait plus difficilement puisque l'animal doit métaboliser les drogues reçues avant de se réveiller. Il faut donc prévoir une surveillance plus longue au réveil qu'avec la méthode par inhalation.

Lors du choix d'une anesthésie aux injectables, il faut prendre en considération le site d'injection à utiliser, le volume d'injection requis et prévoir le niveau d'inconfort lors de l'injection (donner un anesthésique local au besoin). Si le produit est irritant et/ou si le volume est trop petit, il est possible de le diluer pour faciliter l'injection. Il est toujours

préférable d'avoir à portée de main un antagoniste des produits anesthésiants utilisés pour :

- réveiller l'animal plus rapidement en fin de procédure;
- diminuer l'anesthésie d'un animal ayant reçu trop de produits anesthésiques;
- contrer les effets adverses pouvant survenir.

Les produits injectables les plus couramment utilisés chez le rat et la souris sont une combinaison de kétamine et de xylazine.

N'oubliez pas de remplir le registre des drogues contrôlées et narcotiques pour l'utilisation de la kétamine.

Bien que l'injection de produits anesthésiques ne nécessite pas l'utilisation d'un appareil anesthésique, il est fortement conseillé d'en utiliser un pour fournir un apport en oxygène à l'animal durant la procédure anesthésique.

4.4 Les anesthésiques locaux

Les anesthésiques locaux sont utilisés pour diminuer la douleur ressentie localement. Ils peuvent être utilisés au site d'incision d'une chirurgie, au site d'administration d'un produit qu'on prévoit être irritant, pour inhiber certains réflexes indésirables, etc. Les anesthésiques locaux doivent être administrés avant d'induire un stimulus douloureux. Leur temps d'action peut varier d'un produit à l'autre. Il est donc important de vérifier le temps d'action du produit utilisé, afin de s'assurer qu'il sera pleinement efficace lorsque la procédure douloureuse commencera. Une combinaison peut être utilisée afin d'augmenter le temps d'action. Les anesthésiques locaux existants pour les animaux sont :

- la lidocaïne (la plus fréquemment utilisée);
- la bupivacaïne.

4.5 Surveillance

Dès que l'animal a perdu conscience, une surveillance de la profondeur d'anesthésie et des signes vitaux doit être faite à intervalle régulier. La surveillance de l'animal doit se poursuivre jusqu'au réveil complet, c'est-à-dire, lorsque l'animal peut se tenir en décubitus sternal (allongé sur le ventre). Chez les rongeurs, on peut vérifier la profondeur d'anesthésie comme suit :

Tableau 7 : Profondeur d'anesthésie

Profondeur d'anesthésie	Signes observés
Légère	Réflexe ² de retrait et palpébral présents / respiration rapide et régulière / muqueuses roses / température normale
Modérée	Réflexe ² de retrait et palpébral légers / respiration ralentie et régulière / muqueuses roses / température normale
Profonde¹	Réflexe ² de retrait et palpébral absents / respiration profonde et régulière / muqueuses roses / température normale
Sévère	Réflexe ² de retrait et palpébral absents / respiration difficile et abdominale / muqueuses pâles ou bleues / température basse

¹Profondeur d'anesthésie généralement visée dépendamment du caractère invasif ou non de la procédure à effectuer.

²Certains réflexes persistent lors d'une anesthésie à la kétamine.

4.6 Réveil

Lors du réveil, l'animal doit être placé dans un endroit calme, propre et confortable. Il est recommandé de fournir une source de chaleur à l'animal jusqu'à son réveil complet. L'anesthésie peut provoquer une perte de poids et d'appétit chez l'animal le jour suivant. Par contre, cette situation ne devrait pas perdurer. Il est possible d'aider l'animal en lui mettant de la nourriture ramollie au fond de sa cage et une bouteille d'eau avec un long embout pour faciliter l'accès.

Les informations contenues dans ce document servent d'outils de préparation à la formation pratique et ne remplacent en aucun cas la lecture des Procédures normalisées de fonctionnement en vigueur. Veuillez les consulter en ligne au :

<https://www.dsv.ulaval.ca/procedures-normalisees-de-fonctionnement/>