



Objet : Gestion des colonies de souris	Numéro : RE-1
Portée : Ceci est une directive de la Direction des services vétérinaires (DSV) à l'intention des utilisateurs et du personnel des animaleries de l'Université Laval (campus et centres de recherche affiliés).	
Préparée par Claudia Toulouse <i>Technicienne en santé animale conformité, Direction des services vétérinaires</i>	Date : 20 janvier 2015
Modifiée par Anne-Marie Catudal <i>Vétérinaire clinicienne, Direction des services vétérinaires</i>	Date : 26 juin 2020
Révisée par Geneviève Fortin Simard <i>Vétérinaire clinicienne, Direction des services vétérinaires</i>	Date : 17 juillet 2020
But : Décrire la gestion de souris produites par des colonies internes. Documenter le phénotype des animaux provenant de ces colonies.	Version 5

Généralités

- Les animaux destinés à l'établissement d'une colonie interne doivent provenir de fournisseurs reconnus et être exempts de pathogènes exclus (voir PNF CQ-2 Statuts de santé des animaleries de rongeurs) ou être redérivés (voir PNF IE-1 Acquisition de rongeurs de sources non approuvées).
- La mise en place et la gestion d'une colonie de souris doivent d'abord recevoir l'approbation du comité de protection des animaux de l'Université Laval (CPAUL).
- Il est primordial de s'assurer que le nombre d'animaux produits est maintenu au minimum. Il doit couvrir les besoins pour le maintien de la colonie et le transfert d'animaux sur le protocole expérimental.
- Le CPAUL encourage fortement l'utilisation de la cryopréservation afin de réduire le nombre d'animaux produits et de préserver la lignée en cas d'imprévus.
- Afin de prévenir la dérive génétique, il est recommandé d'effectuer un rétro-croisement (*backcross*) de la lignée après 10 générations. Les animaux utilisés ne doivent pas être des animaux wt provenant de la colonie, mais plutôt provenir d'un fournisseur reconnu. Il est important de connaître le fond génétique de la lignée (ex. une C57BL/6J n'est pas équivalente à une C57BL/6N).
- Le professeur responsable, en collaboration avec le personnel technique de l'animalerie, doit tenir à jour la documentation adéquate dans la base de données Darwin pour s'assurer que les nombres d'animaux utilisés pour la reproduction, de naissances, d'animaux transférés sur protocole expérimental et d'animaux non utilisés correspondent à ce qui a été approuvé par le CPAUL.

- Le professeur responsable, en collaboration avec le personnel technique de l'animalerie, doit effectuer un suivi serré du succès des couples reproducteurs et le documenter afin d'assurer une saine gestion de la colonie.
- Le professeur responsable, en collaboration avec le personnel technique de l'animalerie, doit déterminer le phénotype des animaux provenant de sa colonie, en fonction de la modification génétique de l'animal, du sexe et de l'âge. Une bonne connaissance du phénotype permet d'adopter des points limites qui permettront de réduire l'inconfort et la détresse pouvant être associés à certains traits phénotypiques.
- Tous les phénotypes pouvant nuire à la santé de l'animal ainsi que les soins nécessaires doivent être identifiés dans les protocoles, dans Darwin et connus du personnel de l'animalerie.
- Une formation spécifique pour la gestion de colonie est offerte par la DSV et est recommandée pour tous ceux qui ont à gérer des colonies.
- La stratégie de reproduction sera choisie en fonction des besoins, mais devra tenir compte en tout temps du bien-être des animaux reproducteurs et des normes d'hébergement (espace requis par portée).
- Seuls les animaux en santé doivent être utilisés pour la reproduction.
- Un couple avec portée doit disposer de 500 cm² de surface.

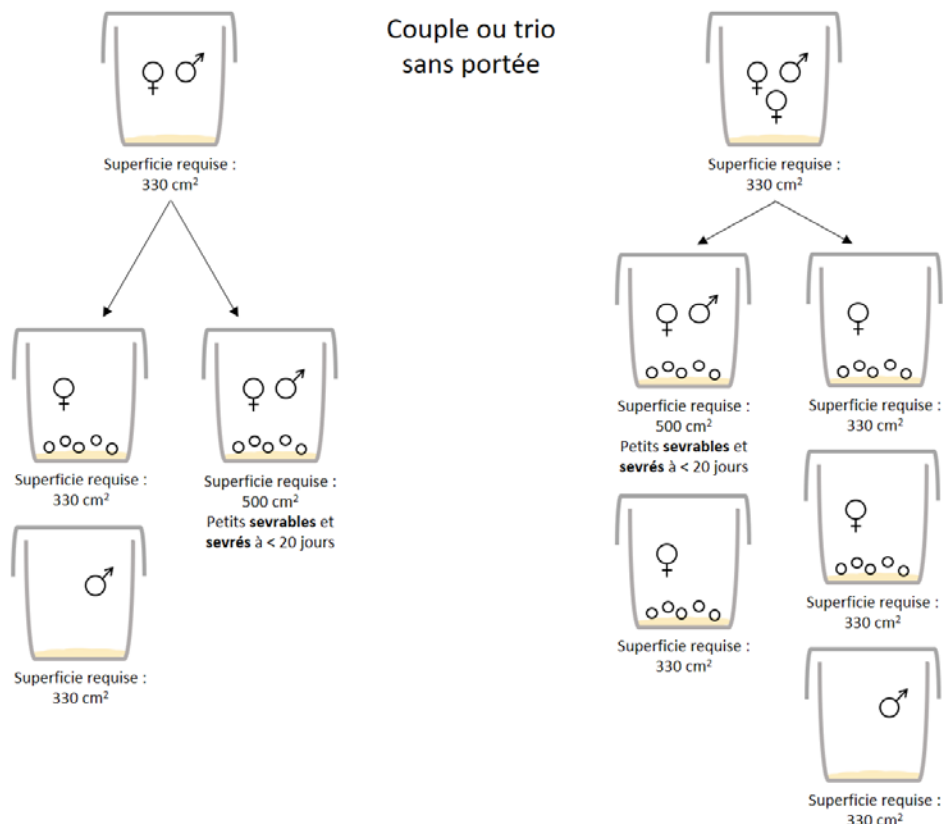


Figure 1 – Superficie de cage requise selon la situation

- Si la reproduction en continu est utilisée, la portée doit obligatoirement être sevrée avant la naissance de la prochaine pour assurer un meilleur taux de survie des nouveau-nés.
- Tous les animaux en reproduction doivent avoir accès à du matériel de nidification. Il faut fournir deux types de matériel (ex. : Nestlet™, copeaux de peuplier (*aspen shaving*) et Enviro-dri®) pour les reproducteurs. Un supplément de graines de tournesol ou de DietGel® Prenatal peut favoriser la reproduction.

Définitions

- Allèle : représente une des différentes versions possibles d'un gène, occupant la même position sur un chromosome spécifique.
- Dérive génétique : phénomène à l'origine de la variabilité génétique lors duquel une mutation spontanée (toutes les 2-3 générations) se fixe dans le temps (9-10 générations) dans une lignée consanguine. La dérive génétique a le potentiel de modifier le phénotype de la lignée et de rendre les résultats de recherche non reproductibles.
- Hémizygote : lorsque pour un gène, un seul allèle existe (ex. gène situé sur le chromosome sexuel X d'un mâle).
- Hétérozygote : lorsque pour un gène, deux allèles différents sont présents sur les deux chromosomes homologues.
- Homozygote : lorsque pour un gène, deux allèles identiques sont présents sur les deux chromosomes homologues. La première portée d'un couple homozygote devrait toujours être génotypée.
- Knock-in (KI) : inactivation d'un gène et remplacement de celui-ci par un gène d'intérêt.
- Knockout (KO) : inactivation complète d'un gène.
- Lignée transgénique : lorsque les descendants d'un animal auquel un ou plusieurs gènes ont été introduits à son génome par transgénèse ont incorporé de façon stable ces gènes.
- Lignée consanguine (*inbred*) : Lignée issue de croisements entre frères et sœurs sur au moins 20 générations consécutives afin d'obtenir des animaux le plus génétiquement semblables possible (ex. C57BL/6J).
- Lignée non consanguine (*outbred*) : lignée issue de croisements entre des individus n'ayant pas de lien de parenté afin de maintenir un taux élevé d'hétérozygotie dans la population (ex. CrI:CD1(ICR)).
- Système Cre-lox : technologie permettant à un gène d'être ciblé après une période critique du développement. Pour avoir une lignée cre-lox, trois différentes lignées doivent être maintenues : la lignée cre, la lignée loxP, et la lignée cre-lox.

- Rétrocroisement (*backcross*) : le croisement d'un hybride avec l'un de ses parents ou avec un individu similaire sur le plan génétique à l'un de ses parents, de manière à obtenir un descendant ayant une identité génétique plus proche de celle du parent. Afin de s'assurer que le fond génétique est pur et testé, il est recommandé de faire le rétrocroisement avec un animal provenant d'un fournisseur reconnu. Le « N » décrit le nombre de rétrocroisements effectués.

Procédures

Reproduction

Choix des reproducteurs

- Le professeur responsable, ou autre personne déléguée, détermine quels seront les animaux à reproduire.
- Le choix des animaux doit être fait en respect du type de lignée à reproduire (consanguine ou non consanguine).
- Les animaux mis en accouplement doivent avoir au minimum 8 semaines d'âge.
- Les animaux en bonne santé pourraient être utilisés à partir de 6 semaines de façon exceptionnelle dans les circonstances suivantes :
 - Lignée avec une fenêtre de reproduction très courte ;
 - Établissement d'une lignée comportant plusieurs transgènes ;
 - Lignée en péril.
- Les couples reproducteurs sont normalement remplacés lorsqu'il y a diminution significative du nombre de naissances par portée ou lorsqu'il y a un intervalle d'environ deux mois entre les portées.

Choix de la stratégie de reproduction – simple (monohybride)

- Homo (-/-) X Homo (-/-) : À utiliser quand les animaux mutants des deux sexes sont fertiles et viables. 100 % des naissances seront -/-.
- Hétéro (+/-) X Homo (-/-) : À utiliser quand les animaux mutants d'un des deux sexes sont infertiles ou non viables. À utiliser si le phénotype n'est observé que chez les -/- et que des animaux contrôles de la même portée sont requis. 50 % des naissances seront -/- et 50 % seront +/-.
- Hétéro (+/-) X Hétéro (+/-) : À utiliser quand les animaux mutants des deux sexes sont infertiles, malades, qu'il y a mort embryonnaire ou que les souriceaux meurent avant d'atteindre l'âge du sevrage. À utiliser si les +/- ont un phénotype intermédiaire. 25 % des naissances seront -/-, 50 % seront +/- et 25 % seront +/+.
- Homo (-/-) X Wt (+/+) : À utiliser quand les animaux mutants d'un des deux sexes sont fertiles, et que les animaux requis en expérimentation sont uniquement +/-.

Choix de la stratégie de reproduction – complexe

Lorsque des lignées comportant plusieurs transgènes sont reproduites, la stratégie de reproduction doit être adaptée aux résultats de génotypage recherchés. Il faut toutefois tenter d'éliminer l'expression de phénotypes indésirables, tels que mortalité embryonnaire et infertilité.

Mise en accouplement

- Normalement, les accouplements sont faits de façon monogame (1 mâle avec 1 femelle), en trio (1 mâle avec 2 femelles) ou en rotation (1 mâle avec 2 femelles/semaine).
- Le temps de gestation est en moyenne de 19 à 21 jours.
- Les souris peuvent être reproduites de façon continue en utilisant l'œstrus postpartum, lorsque les besoins en animaux sont grands, lorsque les lignées sont difficiles à reproduire ou lorsqu'une faible proportion de la portée est du bon génotype. L'espace à l'animalerie doit être disponible pour soutenir le nombre de cages plus important associé à cette stratégie de reproduction.
- La tenue de registre des dates de naissance et l'identification de la mère des souriceaux sont plus difficiles lorsqu'il y a 2 femelles dans la même cage.
- La surpopulation dans les cages doit être évitée. Lorsque la stratégie « trio » est utilisée, au moins une femelle doit être retirée de la cage avant la mise bas afin d'éviter que les femelles aient chacune deux portées en même temps dans la cage.
Note : Si la reproduction en continu n'est pas utilisée, le mâle doit également être placé seul dans une cage propre avant la mise bas.
- Il est recommandé de déranger les nouvelles portées le moins possible dans les premiers jours après la naissance pour éviter de stresser la mère, mais il est important de déterminer le nombre de naissances entre le jour 1 et le jour 3 après la naissance. Il est possible de le faire plus tôt (jour 0) si une procédure est requise (ex. phénotypage des nouveau-nés) ou plus tard si la lignée est particulièrement stressée.
- Les informations sur les naissances doivent être inscrites sur le carton de cage et dans Darwin.

Adoption

- Retirer la mère adoptive de sa cage.
Note : Il est préférable de choisir une femelle adoptive de la même lignée que les souriceaux à transférer. Une femelle de lignée différente peut également être utilisée si la couleur de son pelage est différente.
- Retirer la majorité des bébés de la femelle adoptive. Le total de bébés ne devrait pas dépasser 8.

- Transférer la portée à adopter dans la cage et frotter les bébés avec la litière souillée pour qu'ils aient la même odeur que les bébés d'origine. Ajouter du matériel de nidification au besoin.
- Faire uriner la femelle sur la nouvelle portée.
- Remettre la mère adoptive dans sa cage.
- Replacer la cage sur le support et surveiller le comportement de la mère pour quelques minutes. Si elle prend soin immédiatement de sa nouvelle portée, le transfert a bien fonctionné. Si elle disperse les bébés partout dans la cage, il est peu probable qu'elle s'occupe d'eux. Continuer l'observation au cours des heures suivantes et répéter l'opération avec une nouvelle mère adoptive au besoin.

Sevrage

- Sevrer les animaux entre 21 et 28 jours, selon les lignées. Le poids au sevrage devrait être d'environ 8 à 12 grammes.
- Si les souris sont reproduites de façon continue, il est important de respecter les temps de sevrage pour éviter d'avoir une femelle en lactation avec une portée de 21 jours et une nouvelle portée.
- Si les souriceaux d'une lignée particulière ont un taux de croissance plus lent, ne pas utiliser la reproduction en continu afin de permettre un sevrage plus tardif.
- Si les souriceaux sont trop petits à la date de sevrage prévue, les laisser avec la mère plus longtemps.
- Le jour du sevrage, séparer les animaux par sexe. Le nombre d'animaux par cage dépend de la grandeur de celle-ci et des caractéristiques spécifiques à la souche de souris (ex. : agressivité).

Note : Il est possible de combiner des mâles de portées différentes au sevrage seulement. Il est généralement possible de combiner des femelles d'âges différents sans problème. Il est préférable de ne pas héberger une souris nouvellement sevrée seule. Une ancienne reproductrice (tante ou *auntie*) peut être utilisée pour aider à la transition.

- Pour les premiers jours après le sevrage, faciliter l'accès à la nourriture en plaçant des croquettes dans le fond de la cage et fournir une source d'eau additionnelle aux animaux (ex. bouteille ou HydroGel™).
- Afin de faciliter l'assemblage du nid, fournir des matériaux de nidification partiellement coupés ou déchiquetés. Ajouter aussi une partie du nid de la mère.
- Si la mère décède avant la date de sevrage prévue :
 - Tenter l'adoption si les souriceaux ont moins de 16 jours ;
 - Appliquer la procédure décrite dans PNF TX-1, annexe 1, si les souriceaux sont âgés de 16 jours ou plus.

Identification et géotypage

- Voir les PNF ID-1 et TS-1 pour l'identification et le géotypage des rongeurs.

Points limites

- Les femelles reproductrices doivent être remplacées lorsqu'elles atteignent 8 mois d'âge ou 5-6 portées. Les mâles doivent être remplacés après un maximum de 1 an. Maintenir des reproducteurs au-delà de cet âge entraîne souvent une mauvaise gestion de l'espace et du temps technique.
- Les animaux en bonne santé pourraient être utilisés au-delà de ces limites de façon exceptionnelle dans les circonstances suivantes :
 - Lignée en péril;
 - Validation des reproducteurs de la prochaine génération;
 - Femelle dont le nombre de souriceaux par portée se maintient.
- À la suite du décès d'une deuxième portée consécutive issue d'une même femelle, la retirer de la reproduction.
- En cas de cannibalisme, euthanasier les souriceaux blessés et faire adopter les souriceaux survivants. Il est préférable de remplacer la femelle cannibale.

Note : Un taux plus élevé de cannibalisme est observé chez les femelles primipares.

- Traiter la dystocie selon la PNF TX-1, annexe 1.
- Fournir une grille de points limites précise pour toute lignée ayant un phénotype nécessitant des soins particuliers.

Documentation

- Remplir adéquatement tous les cartons de cage.
- Entrer toutes les informations relatives aux reproducteurs, naissances et animaux transférés sur protocole expérimental dans la base de données Darwin.
- Pour toute nouvelle lignée de souris transgéniques, remplir la fiche d'observation des souris génétiquement modifiées et la conserver dans le local d'hébergement.

Note : Les nouvelles lignées de souris transgéniques comprennent les nouvelles lignées produites par transgénèse, les nouveaux croisements entre deux lignées connues, ou encore les lignées importées pour lesquelles aucune information sur les phénotypes n'était disponible.

- Effectuer un suivi des 5 premières portées de la lignée. Limiter les observations aux ouvertures de cages déjà prévues (ex. décompte J1-J3, géotypage, etc.). En cas d'observations anormales, contacter un vétérinaire et effectuer un suivi serré en remplissant la fiche dans son entièreté pour les 5 portées subséquentes.

- Une grille de points limites pourrait être produite et utilisée afin de réduire l'inconfort et la détresse pouvant être associés aux traits phénotypiques notés.

Suivi de la colonie (personnel de l'animalerie)

- Effectuer un suivi mensuel auprès du professeur responsable afin de s'assurer du transfert des animaux produits vers les protocoles expérimentaux.
- En cas de refus de réponse ou d'inaction de la part du professeur, aviser le CPAUL.

Références

CCPA, *Lignes directrices du CCPA : les souris*, 2019.

CCPA, *Manuel sur le soin et l'utilisation des animaux d'expérimentation*, 1993.

Fox, James G., *The Mouse in Biomedical Research: Normative Biology, Husbandry, and Models*, Academic Press, 2007.

Pritchett-Corning, KR, Chou, ST, Conour, LA, Elder, BJ, *Guidebook on Mouse and Rat Colony Management*, Charles River Laboratories, 2011.

The Jackson Laboratory, *Breeding Strategies for Maintaining Colonies of Laboratory Mice, A Jackson Laboratory Resource Manual*, 2009.

Mises à jour de la PNF		
Version 2	6 décembre 2016	Ajout de précisions concernant les âges des reproducteurs.
Version 3	7 décembre 2017	Ajout de précisions concernant les souris wt utilisées pour le rétrocroisement.
Version 4	20 décembre 2018	Ajout de précisions dans les généralités et sur la reproduction en continu.
Version 5	17 juillet 2020	Mise à jour de la surface de cage requise. Modification du type de matériel de nidification requis. Ajout des définitions de dérive génétique, inbred, outbred. Clarification de l'hébergement de la stratégie « trio ». Ajout de précision sur la vérification des naissances et sur le sevrage. Clarification du suivi des lignées transgéniques. Ajout de la section Suivi de la colonie.