



ACC-5 Gestion de colonie et reproduction chez la souris

1. OBJECTIF

L'objectif de cette politique est de présenter les lignes directrices sur les bonnes pratiques de gestion de colonie d'élevage de souris conformément aux meilleures pratiques et aux normes de protection pour l'utilisation d'animaux de laboratoire à l'Université d'Ottawa. Ces directives visent à assurer le bien-être des rongeurs et à favoriser la production d'animaux en santé. Cette politique est conforme à la *Loi sur les animaux destinés à la recherche L.R.O. 1990, chap. A.22* et aux normes et politiques du Conseil Canadien de Protection des Animaux (CCPA).

2. CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES

Avant d'utiliser des animaux pour la reproduction, le Comité de Protection des Animaux (CPA) de l'Université d'Ottawa doit examiner et approuver un protocole d'utilisation des animaux pour la reproduction. Les procédures expérimentales ne sont généralement pas incluses dans le protocole de reproduction, sauf si elles sont des composantes nécessaires à la production d'une progéniture avec un génotype ou un phénotype souhaité (ex. l'administration de tamoxifène à des femelles gestantes).

C'est la responsabilité du titulaire de recherche, nommé sur le protocole de reproduction approuvé, de s'assurer que toutes les personnes travaillant sous sa supervision possèdent les connaissances, la formation et les compétences nécessaires pour la surveillance et la gestion de colonie de reproduction lorsqu'ils en sont responsables. La prévision des besoins de recherche, les calculs minutieux et la bonne gestion de colonies sont nécessaires pour éviter la production d'animaux excédentaires qui se feront ultimement euthanasier (surproduction).

Les souris ont une période de gestation courte et de grandes portées. Par conséquent, les cages peuvent rapidement devenir surpeuplées si la personne responsable de la gestion de la colonie et de la séparation des animaux au moment du sevrage ne le fait pas en temps opportun. Lorsque cela se produit, les animaux deviennent inconfortables et stressés. Les nouveau-nés peuvent être piétinés et mourir. Dans les cages statiques à micro-isolateur, la qualité de l'air se détériore rapidement avec un grand nombre d'animaux et peut les prédisposer aux maladies respiratoires. La surpopulation des cages est une préoccupation pour le bien-être animal et peut avoir un effet délétère sur la recherche.

Les animaux dans les cages de reproduction doivent être observés au moins deux fois par semaine pour vérifier l'état de santé général des animaux et pour surveiller les nouveau-nés, les portées prêtes au sevrage et la séparation des mâles et des femelles, comme décrit ci-dessous.

3. REPRODUCTION

Les animaux choisis pour la reproduction devraient être en bonne santé et ne pas présenter de problèmes congénitaux (par ex : malocclusion, hydrocéphalie).

Les mâles peuvent être accouplés à partir de 6 à 8 semaines d'âge jusqu'à 11-12 mois. Ils ne devraient plus être utilisés à partir de 12 mois ou lorsque leur succès de reproduction diminue, comme en témoigne l'absence de portée avec une jeune femelle qui a déjà produit une portée ou l'absence de bouchon copulatoire chez la femelle accouplée.

Les souris femelles peuvent être accouplées de 6 à 8 semaines d'âge jusqu'à 7-8 mois. Elles ne devraient plus être utilisées à partir d'environ 9 mois. La fertilité des femelles peut diminuer si elles sont accouplées pour la première fois trop jeunes (avant 6 semaines) ou trop vieilles (après 10 semaines).”

La durée du cycle œstral chez la femelle est de 4 à 5 jours et la réceptivité sexuelle dure de 10 à 20 heures. Les souris sont des ovultrices spontanées. La période de gestation est de 18 à 21 jours, avec une taille de portée très dépendante de la souche, généralement dans une fourchette de 6 à 12 petits. Certaines souches génétiquement modifiées peuvent avoir des portées plus petites.

Les couples reproducteurs qui n'ont pas produit de portées dans les 60 jours suivant leur mise en couple devraient être retirés.

Certaines souris de grande valeur monétaire ou de génotypes difficiles à obtenir peuvent être gardées au-delà de leur période de performance de reproduction optimale (jusqu'à 12 mois pour les femelles et jusqu'à 15 mois pour les mâles). Dans de tels cas, une réduction des performances de reproduction, de la grandeur des portées ou de la vigueur des animaux peut être observée.

Il existe trois stratégies de reproduction possibles qui peuvent être approuvées à l'Université d'Ottawa. Le schéma de reproduction doit être décrit dans le protocole d'utilisation des animaux. Les titulaires de recherche qui souhaitent déroger aux schémas de reproduction indiqués ci-dessous doivent justifier leur demande auprès du Comité de protection des animaux.

3.1. **Stratégies de reproduction**

3.1.1. **Paire monogame**

- Un (1) mâle et une (1) femelle par cage.
- Le mâle et la femelle peuvent rester ensemble pour la durée de la gestation et lors de la période postnatale (voir la section sur la gestation et la parturition).

3.1.2. **Groupe de trois (trio) :**

- Un (1) mâle et deux (2) femelles par cage.
- Le mâle et les deux femelles peuvent rester ensemble pour la durée de la gestation et lors de la période postnatale.

3.1.3. **Méthode d'accouplement programmé :**

- Un (1) mâle et jusqu'à quatre (4) femelles par cage.
- Si les femelles doivent être euthanasiées pour obtenir des embryons pendant la période de gestation, les adultes peuvent tous rester dans la même cage.
- Cependant, si l'intention est d'utiliser les souriceaux entre le jour 0 après la naissance et l'âge du sevrage (jour 21), les femelles doivent être séparées avant la mise bas. Lorsqu'une portée naît, il ne peut pas y avoir plus de 3 adultes et pas plus de 2 femelles dans la cage, comme décrit précédemment dans la méthode du trio.

3.2. **Gestation et Parturition**

Après la copulation (ou la détection d'un bouchon vaginal), les femelles doivent être surveillées de près pendant les 14 à 16 jours suivants pour détecter des signes de gestation. Les signes cliniques de la gestation comprennent :

- non-réceptivité au mâle
- augmentation de l'appétit et prise de poids
- gonflement abdominal

- gonflement des glandes mammaires (dans les stades ultérieurs de la gestation)

La date prévue de mise bas (parturition) chez les souris est évaluée en fonction d'une période de gestation de 18 à 21 jours. Lorsque la mise bas est imminente, il peut être envisagé de retirer le mâle pour éviter la surpopulation, les conflits et la possible cannibalisation des petits qui pourrait résulter des conflits. Le retrait du mâle est également utile pour éviter l'accouplement pendant le cycle œstral post-partum et la période de lactation, empêchant ainsi une production de portées si elles ne sont pas désirées. Si le mâle doit être retiré, il est recommandé de ne pas l'héberger avec d'autres mâles, car des combats pourraient survenir. Dans le cas où l'animal doit être hébergé seul, un enrichissement supplémentaire du milieu est nécessaire pour éviter le développement de comportements stéréotypés. Le mâle et la femelle ne doivent pas être réunis avant que la portée ne soit sevrée.

De plus, les compagnes de cage femelles qui mettront bas en même temps ne devraient pas dépasser deux en nombre. Le maintien d'un maximum de deux femelles avec leurs petits par cage évite la surpopulation et réduit le stress maternel et néonatal. Cette densité de cage permet un niveau d'hygiène optimal et une meilleure visualisation des animaux.

4. GESTION DE COLONIES ET SEVRAGE

En général, les souris sont sevrées à l'âge de 21 jours. Cependant si les souriceaux sont trop petits ou trop faibles à cet âge, ils devraient être laissés avec leur mère jusqu'à ce qu'ils soient suffisamment en santé pour être séparés (à un maximum de 28 jours d'âge). Dans les cas où les lignées sont connues pour la production de souriceaux faibles, la méthode de sevrage tardif devrait être incluse dans le protocole et approuvée par le CPA. Les cages doivent être identifiées comme ayant une « période de sevrage prolongée ». Pour plus d'information, voir la procédure normalisée de fonctionnement (PNF) du Service vétérinaire et animalier (SVA) sur le sevrage des souris.

Si la naissance d'une nouvelle portée arrive avant que la portée précédente n'ait été sevrée, les souriceaux plus âgés devraient être sevrés s'ils ont au moins 18 jours (avec des aliments leur convenant). Si les souriceaux plus âgés sont encore trop petits et sont en petit nombre, ils peuvent être gardés avec leur mère, en travaillant avec le SVA. Contactez le personnel technique du SVA si vous avez des questions sur la procédure de séparation des portées doubles.

Lorsque les animaux ne sont pas sevrés à temps, la personne désignée comme responsable de la colonie recevra un avis du SVA pour aviser que le sevrage est en retard d'une journée et le responsable devra sevrer les souris dans la même journée. Si aucune action n'est prise, les animaux seront sevrés par le personnel du SVA la journée suivante (2 jours en retard) et des frais de services techniques seront facturés au protocole.

Note : Dans certaines circonstances, le sevrage avec 2 jours de retard n'est pas recommandé pour le bien-être des animaux comme lorsqu'il y a présence de nouveau-nés dans une cage contenant des souriceaux en âge d'être sevrés. Dans ce cas, le SVA essaiera de contacter l'équipe de recherche, mais le SVA devra faire le sevrage si l'équipe de recherche ne peut être rejointe ou si personne n'est pas disponible pour effectuer le sevrage la journée même.

5. HÉBERGEMENT ET IDENTIFICATION DES ANIMAUX:

5.1. DENSITÉ D'HÉBERGEMENT

5.1.1. Cage sans reproduction : Un groupe de 3 à 5 souris sevrées par cage est recommandé.

L'hébergement social doit toujours être privilégié, à moins qu'un hébergement individuel ne soit scientifiquement justifié dans un protocole approuvé.

Exceptions :

- les mâles reproducteurs doivent être hébergés individuellement, sauf s'ils ont été choisis pour être en cage avec une ou plusieurs femelles pour la reproduction.

- les mâles C57BL6 achetés auprès de vendeurs commerciaux sont hébergés individuellement pour éviter les combats. S'ils sont produits à l'interne et maintenus dans des groupes de même sexe dès la naissance, un hébergement social est approprié.
- dans tous les cas, les signes d'incompatibilité (par exemple, les blessures dues aux combats) doivent entraîner la séparation permanente des animaux.

Il est recommandé d'héberger les mâles à raison de 3 par cage afin de réduire l'incidence des agressions.

5.1.2. Cages de reproduction

- Accouplement en paires (un mâle, une femelle et une portée)

Les petits doivent être sevrés avant la mise bas de manière qu'il n'y ait qu'une seule portée à la fois.

- Accouplement en trio (un mâle, deux femelles et jusqu'à 2 petites portées de moins de 14 à 21 jours d'écart d'âge)
 - plus approprié pour les lignées génétiquement modifiées et les souches à fécondité réduite
 - non recommandé pour les souches consanguines à fécondité élevée ou les stocks d'animaux croisés
 - les grandes portées peuvent nécessiter la séparation des portées et des mères si la cage devient surpeuplée (par exemple, plus de 15 souris âgées de plus de 14 jours, y compris les adultes).

Dans tous les cas, les cages doivent être surveillées pour éviter toute souillure excessive et nettoyées si nécessaire afin de maintenir des conditions micro-environnementales appropriées.

5.2. Identification des cages

Les cartes de cage sont des documents expérimentaux qui sont utilisés pour suivre l'historique des manipulations des animaux et leurs résultats ainsi que la santé des animaux (comme indiqué dans les normes du CCPA et dans la *Loi sur les animaux destinés à la recherche L.R.O. 1990, chap. A.22*).

Cartes de cage de reproduction : l'information relative à la production et à la survie des souriceaux jusqu'au sevrage doit être fournie et mise à jour régulièrement pour que le personnel technique du SVA puisse observer la performance des colonies et/ou aider la production, y compris en déterminant les causes d'une faible performance de reproduction. En plus de l'identification du titulaire de recherche et du protocole, les cartes de cage doivent inclure :

- La date de naissance, la lignée et l'identification de la femelle reproductrice
- La date de naissance, la lignée et l'identification du mâle reproducteur
- La date de l'accouplement
- La date de retrait du mâle reproducteur (au besoin)
- La date de naissance de la portée et autres informations : nombre de souriceaux et statut (né vivant, mort, total, sexes et anomalies).

6. TENUE DES DOSSIERS

Une tenue de dossier détaillée est nécessaire pour la bonne gestion d'une colonie de reproduction. Les cartes de cage de reproduction ainsi qu'un système centralisé de tenue de dossier devraient être utilisés pour faire le suivi des mises en accouplement et des résultats. Plusieurs types de systèmes de gestion de colonie existent, incluant les produits commerciaux, les bases de données gratuites ou un système maison créé par le laboratoire. Les laboratoires sont aussi encouragés à conserver des calendriers pour noter les naissances et les dates de sevrage. Voici une liste d'informations à inclure sur les cartes de cage de reproduction et dans le système de tenue de dossier :

- Identification, dates de naissance et génotypes de la femelle et du mâle.
- Date de mise en couple (avec mise à jour des cartes Topaz si les reproducteurs sont changés - les anciennes cartes sont placées derrière les nouvelles).

- Date de naissance et quantité de souriceaux.
- L'état de la portée (sevrée/morte).
- Notes (problèmes)

Les informations suivantes doivent être conservées dans la base de données de suivi de la reproduction, mais n'ont pas besoin de figurer sur la carte de cage de reproduction :

- Identifiants des petits.
- Informations sur le génotype des petits.
- Utilisation prévue des petits (par exemple, expérience, reproduction, euthanasie)

Le Comité de protection des animaux approuve l'utilisation des animaux selon le nombre d'animaux utilisés pour la reproduction et selon le nombre de petits produits. Une bonne tenue de dossiers de la colonie de reproduction va :

- 1) faciliter la transmission du nombre d'animaux au Comité de protection des animaux au moment du renouvellement du protocole.
- 2) permettre de facilement déterminer le nombre total d'animaux produits en comparaison avec le nombre d'animaux utilisés pour l'expérimentation et celui pour le remplacement des reproducteurs.

HISTORIQUE DES VERSIONS

DATE	VERSION
Avril 2015	Politique créée (v1)
Novembre 2019	Politique révisée (v2)
Octobre 2023	Politique révisée (v3)