

Points limites chez les rongeurs

Procédure normalisée de fonctionnement 202 (PNF-202)

Date d'entrée en vigueur :
30 septembre 2010

Révision :
1^{er} février 2017

CBSA-10-74-12
CBSA-17-113-08.1

Matériel

Appareils/Instruments/Équipements

- Balance

Documents

- PNF-013 Formation des utilisateurs de rongeurs en recherche
- PNF-212 Euthanasie des rongeurs
- PNF-203 Rongeurs âgés : observations, signes cliniques, soins et points limites
- PNF-309 Utilisation du MPTP chez les rongeurs
- Feuille de suivi et traitement de l'animal (**ANNEXE VI**)

Généralités

Les points limites sont des critères clairs, établis pour prévenir ou soulager la douleur d'un animal utilisé en recherche ou en enseignement. L'atteinte d'un point limite détermine les actions à prendre pour arrêter, minimiser ou réduire la douleur en :

- Administrant un traitement visant à soulager la douleur ou la détresse;
- Mettant fin à l'intervention douloureuse ou en retirant l'animal de l'étude ;
- Modifiant les procédures expérimentales pour minimiser l'inconfort ;
- Euthanasiant l'animal selon la **PNF-212 Euthanasie des rongeurs**.

Toute souffrance, toute détresse ou tout inconfort réel ou potentiel des animaux doit être soulagé en choisissant le point limite le plus précoce compatible avec les objectifs scientifiques de la recherche.

La mort comme point limite d'une expérience est indésirable et n'est pas acceptée par les comités de protection des animaux, dont le CBSA.

Méthodes et processus

Détermination des points limites

Le chercheur :

- Établit les critères définissant les points limites expérimentaux relatifs à son protocole et les actions particulières pour chaque point limite atteint, et ce, en utilisant :
 - Les points limites généraux (**ANNEXE I**);
 - Des normes établies dans la littérature;
 - Les résultats d'une étude pilote approuvée par le CBSA.

Pour certaines techniques ou certains protocoles, des PNF spécifiques établissant les points limites expérimentaux ont déjà été approuvées par le CBSA (voir **PNF-309 Utilisation du MPTP chez les rongeurs** et **PNF-203 Rongeurs âgés : observations, signes cliniques, soins et points limites**);

- Élabore des grilles d'évaluation quantitatives des points limites qui doivent inclure des valeurs objectives associées aux conditions à observer, la fréquence d'observation des animaux et les actions à prendre (voir les exemples à l'**ANNEXE II**). Ces grilles doivent être jointes à la demande d'autorisation pour l'utilisation d'animaux;
- Consulte l'équipe de soins des animaux qui peut le conseiller dans la définition des points limites et proposer des méthodes alternatives et de raffinement afin de minimiser la douleur et la détresse chez l'animal;
- Fait une demande d'étude pilote auprès du CBSA lorsque les effets d'un traitement ou d'une intervention sont inconnus. L'étude pilote permet d'établir les points limites les plus précoces en n'utilisant qu'un nombre limité d'animaux.

Le CBSA :

- S'assure que les critères définissant les points limites et les actions à prendre lors de l'atteinte de chaque point limite sont clairement définis dans le protocole et sont adéquats pour le protocole présenté;
- Demande une étude pilote lorsqu'il le juge nécessaire.

Observation des animaux et évaluation du bien-être

Observation

- Afin de reconnaître la douleur chez l'animal, il est important de connaître d'abord le comportement normal de l'espèce (**Tableau 1**).

Tableau 1 : Comportement normal des espèces utilisées à l'animalerie de l'UQTR.

Espèce	Comportement normal
Souris	Femelle sociable (vit bien en groupe) Mâle sociable si vit en groupe avant la puberté Nocturne Toilettage du pelage Expression faciale normale (ANNEXE III)
Rat	Curieux Nocturne Toilettage du pelage Expression faciale normale (ANNEXE IV) Sociable

- Le chercheur et les membres de son équipe doivent obtenir une formation permettant d'acquérir les connaissances et compétences pour l'évaluation du bien-être animal. Cette formation est donnée par l'équipe de soin des animaux lors de la formation pratique sur l'utilisation des animaux (voir **PNF-013 Formation des utilisateurs de rongeurs en recherche**).
- Les animaux sont observés selon la fréquence prévue au protocole approuvé par le CBSA. La fréquence des observations doit être accrue en fonction de l'augmentation potentielle de la souffrance et/ou de la détresse de l'animal.

Évaluation du bien-être

L'observation pour évaluer le bien-être animal se base sur trois types de paramètres : comportementaux (**Tableau 2**), cliniques quantifiables (**Tableau 3**) et cliniques observables (**Tableau 4**).

Tableau 2 : Paramètres comportementaux à observer chez les rongeurs.

Paramètre	Observation(s)
Mobilité/coordination	Spasmes, faiblesse musculaire, perte partielle de ses capacités motrices, démarche sur la pointe des pieds
Activité	Se déplace dans la cage, explore, moribond
Vocalisation	Vocalisation anormale avec ou sans manipulation
Isolement	Interaction avec les autres animaux dans la cage
Occupation du territoire	Fabrication du nid/utilisation du matériel d'hébergement
Réaction à la manipulation	Vocalisation excessive, agressivité, léthargie
Expressions faciales	Voir l' ANNEXE III et l' ANNEXE IV

Tableau 3 : Paramètres cliniques quantifiables à observer chez les rongeurs.

Paramètre	Observation(s)
Poids	Différence de poids depuis le début du protocole (%) Perte de poids ponctuelle, rapide ou chronique
Température corporelle*	Animal froid ou chaud au touché
Fréquence respiratoire*	Augmentée lors de détresse ou de douleur Diminuée ou profonde lorsque l'état de l'animal est critique
Fréquence cardiaque*	Augmentée lors de détresse ou de douleur Diminuée lorsque l'état de l'animal est critique
Équilibre hydrique (hydratation)	Déshydratation : plis cutanés longs (+ d'une seconde), yeux exorbités, diminution de l'activité, perte de poids. Polyurie : beaucoup d'urine dans la cage
Consommation alimentaire et d'eau	Quantité et qualité des selles et urines

*Voir les paramètres normaux à l'**ANNEXE V**.

Tableau 4 : Paramètres cliniques observables chez les rongeurs.

Paramètre	Observation(s)
État corporel (ou état de chair)	Consulter l' ANNEXE VI
Peau et état du pelage	Dermatite et lésions cutanées Toilettage, apparence terne, hérissé
Posture	Dos vouté
Douleur	Posture anormale, diminution de l'activité, vocalisation, isolement, agressivité, automutilation
Signes neurologiques	Tremblements, incoordination, tournis, convulsion
Infections	Plaie enflée, rouge, chaude
Boiterie	Démarche anormale de l'animal avec ou sans appui sur le membre atteint Enflure d'un membre
Dentition	Croissance anormale des dents (problème de nutrition donc animal plus petit que congénères du même âge)
Couleur des muqueuses	Extrémités et yeux pâles (hémorragie) Temps de remplissage capillaire
Yeux	Couleur, écoulement, ouverts ou fermés

Suivi

- Les observations doivent être notées sur la feuille de suivi et de traitement de l'animal (**ANNEXE VII**).
- 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 (ou le personnel de soin des animaux).
- Le vétérinaire peut recommander :
 - L'arrêt de l'expérimentation sur l'animal
 - Une modification de la procédure
 - L'utilisation d'analgésiques
 - L'euthanasie de l'animal

Cas précis : les masses tumorales

- Les animaux sur protocole d'injection de cellules tumorales doivent être surveillés plus étroitement (voir le **Tableau 5**), au minimum 1 fois par semaine (poids, palpation de la tumeur, état général).
- La surveillance de l'état de santé des animaux doit être augmentée à 2 ou 3 fois par semaine durant la phase critique de l'étude (croissance des tumeurs), plus particulièrement lors de l'approche des points limites.
- Quand la grosseur des tumeurs approche le point limite, elles doivent être mesurées régulièrement :
 - ± 50 % de l'atteinte du point limite : une mesure est prise chaque semaine
 - Lorsque le point limite approche (80-90 %) : une mesure est prise 2 fois par semaine.
 - Lors de la croissance rapide des tumeurs, 1 à 2 mesures par semaine peuvent être nécessaires.

Tableau 5 : Tableau des points limites et des interventions pour les animaux sur protocole d'injection de cellules tumorales.

Conditions	Observations	Actions
Condition générale	Dos vouté, pelage terne, hypothermie, vocalisation	Traitement de support approprié (analgésie ou autre) Euthanasie si aucune amélioration
Propriété de la tumeur	Ulcération, nécrose, infection	Euthanasie de l'animal
	Interférence avec les fonctions normales	Euthanasie de l'animal si la masse empêche les activités suivantes : se nourrir, boire, uriner, déféquer, marcher
	Métastase	Surveiller les signes cliniques de l'animal.
Poids de l'animal	Perte de poids rapide ou importante (20 % du poids initial) <i>**Attention au poids de la tumeur.</i> Bien vérifier l'état de chair de l'animal	Euthanasie de l'animal
État de chair	État de chair 2 ou moins (ANNEXE VI)	Traitement de support approprié Euthanasie si aucune amélioration
Volume de la tumeur	Souris : $\geq 2 \text{ cm}^3$	Euthanasie de l'animal
	Rat : $\geq 10 \text{ cm}^3$	Euthanasie de l'animal

ANNEXE I : Points limites généraux

Conditions qui demandent obligatoirement une attention ou une action particulière de la part de l'équipe de recherche et du personnel de soin.

Condition	Degrés de sévérité	Pointage
Perte de poids	Légère ou ponctuelle (ex : après une chirurgie) avec rétablissement rapide.	2
	Rapide ou chronique, supérieur à 20 % du poids initial ou associée à un état de chair de 2 et moins (ANNEXE VI)	4
Déshydratation	Légère	2
	Sévère ou prolongée	4
Diminution de l'activité	Légère	2
	Marquée	3
Dermatite ou lésion cutanée	Moins de 20% de la surface corporelle, sans ou avec peu d'infection, sans atteinte aux muscles (rougeur)	2
	Plus de 20% de la surface corporelle, avec infection et/ou atteinte aux muscles (dermatite perforante)	4
Décubitus latéral	Ponctuelle	3
	Prolongé (menant à une incapacité à s'alimenter ou s'abreuver)	4
Maigreur/ Émaciation	État de chair 1 ou moins (ANNEXE VI)	4
	État de chair 2 (ANNEXE VI)	3
Hyperthermie/ hypothermie	Légère à modéré (± 1 à 2 °C par rapport à la température normale)	3
	Sévère (+2 °C par rapport à la température normale) ou prolongée	4

Condition	Degrés de sévérité	Pointage
Difficultés respiratoires	Légères ou ponctuelles	3
	Sévères ou prolongées (particulièrement si accompagnées de cyanose)	4
Problème de dentition	Léger et pouvant être traité	1
	Sévère et récurrent	4
Dystocie	Sans possibilité de césarienne	4
Hémorragie	Pâleur des yeux ou des extrémités	3
	Sévère ou incontrôlée	4
Paralyse	Légère à modérée (l'animal est en mesure de se nourrir et de s'abreuver)	2
	Sévère (l'animal est dans l'incapacité de se nourrir et de s'abreuver)	4
Dos vouté	Condition suggérant un inconfort ou une douleur pouvant être traitée par l'administration d'un analgésique ou autres traitements	2 ou 3
	Condition suggérant une douleur ne pouvant être soulagée par l'emploi d'agents analgésiques ou autres traitements.	4
Apparence terne du pelage	Diminution du toilettage léger ou pelage terne associé au vieillissement de l'animal ou à une condition particulière	1
	Diminution du toilettage important, non associé au vieillissement de l'animal ou à une condition particulière	2
Signes neurologiques	Incoordination ou tremblements légers à modérés	3
	Incoordination ou tremblements sévères	4

Légende :

1 = Suivi hebdomadaire : poids, apparence physique, comportement

2 = Suivi quotidien : observation 1X/jour, traitement de support approprié au besoin

3= Suivi quotidien : observation 2X/jour, traitement de support approprié, euthanasie à prévoir

4= Euthanasie

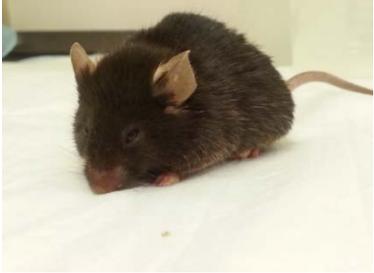
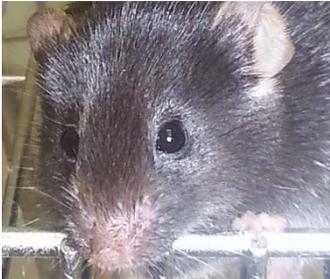
ANNEXE II : Exemple d'une grille d'évaluation quantitative des signes cliniques

Code utilisé*	Description du point limite observé	Action(s) à prendre
Apparence générale et comportement		
0	Aucun signe d'inconfort Animal alerte et actif Poils lisses	Aucune
1	Animal alerte et actif Poils sont un peu hérissés Certains signes d'inconfort (ex. : dos légèrement courbé, etc.)	Suivi hebdomadaire de l'animal (poids, apparence physique et comportement)
2	Animal alerte mais moins actif Dos courbé Poils hérissés.	Suivi quotidien de l'animal (min. 1 observation par jour), traitement de support approprié aux besoins
3	Animal déshydraté et/ou maigre Poils très hérissés Se déplace peu et avec difficulté Yeux ternes ou fermés	Suivi quotidien de l'animal (min. 2 observations par jour), traitements de support appropriés, euthanasie à prévoir.
4	Animal inactif Incapable de se déplacer Poils très hérissés Dos courbé Possibilité de décubitus latéral et de difficulté respiratoire	Euthanasie immédiate de l'animal
Locomotion		
B1	Animal boite Membre, ni rouge, ni enflé	Administration d'analgésique
B2	Animal boite Membre enflé et/ou rouge Après administration d'analgésique, boite toujours mais se déplace relativement bien.	Administration d'analgésique et augmentation de la fréquence d'observation afin de s'assurer que l'animal s'alimente bien et que son état est stable.
B3	Animal présente une paralysie d'un ou de plusieurs membres	Administration d'analgésique et euthanasie à prévoir si aucune amélioration et si la paralysie entraîne une incapacité à se nourrir et à s'abreuvoir.

Code utilisé*	Description du point limite observé	Action(s) à prendre
Signes neurologiques		
T1	Observation d'un début de tremblement au niveau de la tête de l'animal	Augmentation de la fréquence d'observation.
T2	Animal présente des tremblements au niveau de la tête Incoordination dans les mouvements Animal peut se déplacer et se nourrir	Administration traitement de support Augmentation de la fréquence d'observation.
T3	Animal se déplace et se nourrit avec difficulté tellement l'incoordination est importante Signes d'amaigrissement et de déshydratation peuvent être apparents	Euthanasie de l'animal

*Les codes sont déterminés par le chercheur pour une inscription rapide dans le dossier de santé de l'animal.

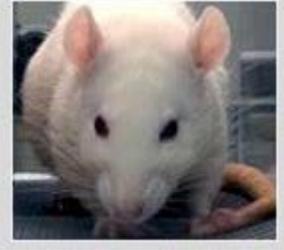
ANNEXE III : Échelle de la douleur et expressions faciales chez la souris

Normale	Douleur modérée	Douleur sévère
Plissement des yeux		
Yeux ouverts 	Yeux fermés légèrement 	Yeux mi-clos à fermés complètement 
Renflement du nez et des joues		
Aucun 	Léger 	Sévère 
Position des oreilles		
Droites 	Légèrement penchées 	Vers l'arrière 

Normale	Douleur modérée	Douleur sévère
Posture et état du pelage		
<p data-bbox="370 394 461 422">Normal</p> 	<p data-bbox="662 394 943 453">Début pelage terne/dos vouté</p> 	<p data-bbox="1047 394 1328 426">Pelage terne, dos vouté</p> 

ANNEXE IV : Échelle de la douleur et expressions faciales chez le rat

Normale	Douleur modérée	Douleur sévère
Plissement des yeux		
<p>Yeux ouverts</p> 	<p>Yeux fermés légèrement</p> 	<p>Yeux mi-clos à fermé complètement</p> 
Aplanissement du nez et des joues		
<p>Normal</p> 	<p>Léger</p> 	<p>Important</p> 
Position des oreilles		
<p>Droites</p> 	<p>Légèrement penchées</p> 	<p>Vers l'arrière</p> 

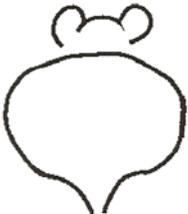
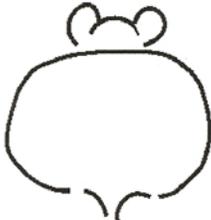
Normale	Douleur modérée	Douleur sévère
Moustaches		
<p data-bbox="370 405 456 432">Normal</p> 	<p data-bbox="659 405 943 432">Légèrement vers l'avant</p> 	<p data-bbox="1060 405 1321 432">Hérissées vers l'avant</p> 

(Sotonal et al., 2011)

ANNEXE V : Valeurs normales des signes vitaux selon l'espèce

Signe vital	Souris	Rat
Température rectale (°C)	36,5 à 38	37,5 à 38,5
Fréquence respiratoire/moyenne (écart)	138 respirations/minute (100-200)	92 respirations/minute (70-115)
Fréquence cardiaque/moyenne (écart)	470 battements/minute (325-780)	350 battements/minute (250-450)

ANNEXE VI : Notation de l'état corporel (État de chair, EC)

EC 1	
	<p>La souris est émaciée (très maigre) :</p> <ul style="list-style-type: none"> • L'ossature est très proéminente; il y a peu ou pas de chair • La segmentation des vertèbres est distincte
EC 2	
	<p>La souris est maigre :</p> <ul style="list-style-type: none"> • La segmentation de la colonne vertébrale est évidente • Les os dorsopelviens sont faciles à palper
EC 3	
	<p>La souris est en bon état de chair :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Les vertèbres et les os du bassin ne sont pas proéminents; on peut les palper en exerçant une légère pression
EC 4	
	<p>La souris est en état de chair lourd :</p> <ul style="list-style-type: none"> • La colonne vertébrale est une ligne continue • Les vertèbres sont palpables en exerçant une pression ferme
EC 5	
	<p>La souris est obèse :</p> <ul style="list-style-type: none"> • La souris est lisse et volumineuse • L'ossature n'est plus apparente sous la chair et la graisse sous-cutanée

On peut ajouter un « + » ou un « - » à la notation de l'état corporel de l'animal si des paramètres supplémentaires sont nécessaires (ex : 2+ = pas 3 mais presque.....2- = pas 1 mais presque)
 (Ullman-Culleré et Foltz, 1999)

Références :

- CCPA, [Ligne directrice du Conseil Canadien de protection des animaux : choisir un point limite approprié pour les expériences faisant appel à l'utilisation des animaux en recherche, en enseignement et dans les tests](#), 1998
- Sotonal *et al.*, [The Rat Grimace Scale : a partially automated method for quantifying pain in the laboratory rat via facial expressions](#), Molecular Pain, 2011, 7:55
- Ullman-Culleré et Foltz, [Body condition scoring: a rapid and accurate method for assessing health status in mice](#), Laboratory Animal Science, 1999, 49: 319
- Charles River, [Handbook of clinical signs in rodents and rabbits](#), 2010

Révisée par :

Responsable de l'animalerie : Mme Fanny Longpré	Signature :	Date :
Vétérinaire : Dr André-François Couture	Signature :	Date :
Technicienne en santé animale: Mme Nadia Desnoyers	Signature :	Date :