



Gestion des colonies internes de souris

Procédure normalisée de fonctionnement 114 (PNF-114)

Date d'entrée en vigueur :
17 juin 2020

Révision
15 novembre 2023

CBSA-20-133-08.2
CBSA-23-154-09.2

Matériel

Équipements

- Poinçon d'oreilles
- Microtubes stériles
- Logiciel de gestion de colonies
- Fiches d'identification de cages

Documents

- PNF appropriées :
 - PNF-103 Programme de surveillance de la santé chez les rongeurs
 - PNF-105 Acquisition de rongeurs
 - PNF-106 Facturation du service de l'animalerie : Services techniques et *per diem*
 - PNF-202 Points limites chez les rongeurs
 - PNF-205 Identification des rongeurs
 - PNF-214 Traitements communs chez les rongeurs
- Annexes :
 - Fiches d'identification des cages (**Annexe I**)
 - Sexage des souris selon l'âge (**Annexe II**)

Généralités

- L'établissement d'une colonie interne de souris est conditionnel à l'autorisation du Comité de bons soins aux animaux (CBSA).
- La reproduction de colonies d'animaux à l'interne doit se faire seulement en cas de stricte nécessité et doit faire l'objet d'une gestion efficace, en accord avec un besoin anticipé et avec le principe de réduction (CCPA).



- Certains des facteurs à considérer pour déterminer si les animaux doivent être reproduits à l'interne ou être obtenus de l'extérieur comprennent: l'espace disponible (selon le nombre d'animaux requis), la capacité des installations (p. ex., la possibilité d'isoler des animaux), la disponibilité du personnel et les connaissances relevant des exigences particulières en matière d'hébergement et d'élevage, le coût, le temps nécessaire pour élever les animaux à un âge qui convient pour leur utilisation prévue, la disponibilité d'un fournisseur fiable qui peut fournir des animaux sur demande, la capacité de recourir à la sous-traitance pour la reproduction ou l'élevage des animaux jusqu'à l'âge désiré.
- La gestion de colonies permet le maintien d'une lignée de souris répondant aux besoins des protocoles expérimentaux.
- Le nombre d'animaux produits lors du maintien doit être au minimum.
- L'acquisition des animaux doit être en conformité avec la **PNF-105 Acquisition de rongeurs**.
- Comme la gestion de colonies demande une planification et un suivi rigoureux, la collaboration entre les équipes de recherche et le personnel de soins aux animaux est essentielle.
- Les frais de maintien sont détaillés dans la **PNF-106 Facturation du service de l'animalerie : services techniques et *per diem***.
- Le suivi sanitaire des colonies, selon la **PNF-103 Programme de surveillance de la santé chez les rongeurs** est essentiel et obligatoire pour détecter la présence d'organismes pathogènes pouvant causer des maladies ou des altérations de la réponse des animaux en cours d'expérimentation.
- La cryoconservation est un moyen efficace pour réduire la production d'animaux et éviter l'extinction d'une lignée. Elle est donc fortement recommandée par le CBSA.

Rôles et responsabilités

Équipe de recherche

- Collaborer à l'identification des besoins avec le personnel de soins des animaux.
- Planifier la production de souris pour assurer le maintien de la colonie et assurer les besoins expérimentaux.
- Établir la stratégie de reproduction, en fonction des recommandations du personnel de soins des animaux.
- Suivre la production de souris afin de détecter toute anomalie.
- Communiquer au personnel de soins des animaux :
 - Les observations et commentaires pertinents concernant la productivité des couples ;
 - Les prélèvements de tissus à effectuer pour le génotypage ;
 - Les euthanasies à effectuer dans la colonie de maintien.
- Effectuer le génotypage.
- Mettre à jour le registre de gestion de colonies.



Personnel de soins des animaux

- Évaluation des besoins avec l'équipe de recherche.
- Maintenir la population de souris au minimum (principe des 3R).
- Procéder aux accouplements.
- Assurer le suivi des reproductions et des naissances.
- Remplir les fiches d'identification sur les cages.
- Procéder aux sevrages.
- Identifier les animaux.
- Transférer les souris du protocole de reproduction au protocole expérimental.
- Euthanasier (au besoin) les souris de la colonie de maintien ainsi que les animaux n'ayant pas le génotype ou le phénotype voulu.
- Mettre à jour le registre de gestion de colonies.
- Prélever les tissus pour le génotypage.

Méthodes et procédures

La reproduction

Tableau 1 : Résumé de la physiologie des souris

Maturité sexuelle	♂ 6 semaines d'âge ♀ 5 à 8 semaines d'âge
Fin de vie reproductive	♂ 7 à 8 mois d'âge ♀ 6 à 8 mois d'âge
Cycle reproducteur	Polyœstrus de 4 à 5 jours
Type d'ovulation	Spontanée
Durée de gestation	19 à 21 jours
Portées	6 à 12 souriceaux
Durée de lactation	21 jours

L'accouplement

- Les animaux peuvent être mis en accouplement dès l'âge de 6 semaines.
- Afin de déterminer la période optimale d'accouplement, il est possible d'utiliser un moniteur de cycle œstral ou encore d'effectuer des frottis vaginaux.
- De préférence, utiliser des mâles expérimentés.
- Si possible, ajouter la femelle dans la cage du mâle lors de l'accouplement.
- Identifier la cage à l'aide des fiches *Reproduction* et *Reproducteur* auxquelles s'ajoute un code de couleurs permettant de suivre la gestation. (**Annexe I**).
- Procéder à l'hébergement selon un des schémas d'accouplement présenté au **Tableau 2**. Un schéma d'accouplement monogame donne généralement des résultats plus constants que les autres schémas.

Tableau 2 : Schémas d'accouplement et particularités d'hébergement

Schéma	Particularités d'hébergement
Monogame 1 ♂ / 1 ♀	Séparer le mâle de la femelle lorsque la gestation est confirmée.
Trio 1 ♂ / 2 ♀	Afin d'éviter la surpopulation dans la cage, il est préférable de retirer au moins 1 femelle de la cage, lorsque les gestations sont confirmées.
Harem 1 ♂ / 3-4 ♀	Les femelles sont mises avec le mâle seulement pour l'accouplement. Dès que la gestation est confirmée, les femelles doivent être séparées afin d'éviter la surpopulation. Cette méthode d'accouplement peut épuiser le mâle et diminuer l'efficacité de ce dernier.
Accouplement en continu 1 ♂ / 1 ♀	Laisser le mâle avec la femelle et leur portée. Un œstrus post-partum survient entre 14 et 24 heures suivant la mise-bas, permettant à la femelle de se reproduire. Sevrer les portées avant la naissance des suivantes afin d'assurer la survie des nouveau-nés.



La gestation

- Garder des conditions environnementales stables afin de ne pas stresser les souris, notamment en évitant d'ouvrir les cages et de manipuler les animaux inutilement.
- Au besoin, confirmer l'accouplement en vérifiant la présence du bouchon vaginal, aussi appelé coagulum (80% à 90% des cas) :
 - Sur un grillage ou une surface plane, maintenir la femelle par la base de sa queue et examiner son orifice vaginal;
 - Repérer un bouchon blanchâtre dur et irrégulier;
 - Si nécessaire, utiliser un coton-tige afin de gratter délicatement.
- Pour confirmer la gestation 12 jours après la date d'accouplement : utiliser un tuyau clair pour soulever la femelle et confirmer la gestation en observant l'abdomen par le dessous. À la palpation, le ventre est plus ferme.
- À la fin de la gestation (19-21 jours), porter une attention particulière à l'état de santé de la femelle. Si elle semble forcer sans la présence de souriceaux, faire un suivi au courant de la journée.

Les complications à la naissance

- En cas de dystocie, aviser l'équipe de recherche pour établir un plan d'action (selon la **PNF-214 Traitements communs chez les rongeurs**). Les signes de dystocie sont les suivants :
 - L'animal est en douleur (**PNF-202 Points limites chez les rongeurs**) ;
 - Un écoulement de sang est présent au niveau de la vulve ;
 - Plus de 4 heures se sont écoulées depuis la naissance du premier souriceau ;
 - La femelle a un souriceau coincé dans les voies génitales;
 - La femelle force continuellement sans résultat.
- Décès de souriceaux (par manque de soins ou cannibalisme) : Mettre les carcasses dans un sac à déchets, ou un gant de nitrile, et en disposer dans le congélateur cadenassé à l'entrée de l'animalerie (**PNF-212 Euthanasie des rongeurs**).
- Perte de la portée entière : Reprendre l'accouplement. S'il y a perte de la portée pour une seconde fois, remplacer la mère.
- Si les souriceaux sont importants pour le maintien de la colonie ou pour le protocole de recherche, il est possible de procéder à l'adoption.

Procédure d'adoption

- Identifier les souriceaux (**PNF-205 Identification des rongeurs**) afin de les différencier des petits de la portée d'adoption.
- Choisir une mère adoptive ayant des souriceaux du même âge que ceux à adopter : prioriser les mamans CD-1, car elles sont très maternelles.
- Retirer la femelle adoptive de sa cage d'hébergement.



- Transférer la portée à adopter dans la cage de la mère adoptive puis les frotter dans la litière souillée afin qu'ils soient imprégnés de l'odeur de cette nouvelle maman.
- Lorsque c'est possible, faire une contention de base à la femelle afin de mettre de l'urine sur les petits.
- Attention : ne pas ajouter trop de souriceaux dans la cage puisque la femelle a déjà sa portée.
- Remettre la maman dans sa cage puis s'assurer qu'elle s'occupe bien des bébés.
- Poursuivre l'observation dans la journée au besoin.

La naissance et le développement

- Faire le décompte des souriceaux et remplir la fiche *Reproduction*.
- Observer l'état de santé des souriceaux : ligne de lait, coloration rosée, grosseur par rapport aux autres bébés.
- La présence de la ligne de lait démontre que la mère nourrit ses petits.
- Au besoin, vérifier le phénotype et disposer des animaux comme prévu au protocole de recherche.
- Indiquer toute observation pertinente au dos de la fiche *Reproduction*.
- Sexe (**Annexe II**) et identifier les souriceaux (**PNF-205 Identification des rongeurs**) à partir de 14 jours si la méthode d'identification le permet (**PNF-205 Identification des rongeurs**).
- Si l'identification des souriceaux se fait au poinçon d'oreille, garder les tissus pour le génotypage.

Le sevrage

- Procéder au sevrage entre 21 et 28 jours d'âge.
- L'âge du sevrage intervient dans le comportement des souris. Le sevrage avant l'âge de 21 jours peut entraîner plus d'anxiété chez les bébés et réduire les comportements maternels à maturité et la capacité à s'adapter à des groupes.
- Lorsque c'est possible, on devrait attendre que les souriceaux soient âgés de 28 jours pour le sevrage, sauf si la cage est surpeuplée ou si la maman a été accouplée de nouveau lors de l'œstrus post-partum.
- Si la femelle a déjà une portée, est en accouplement continu et est gestante, il est préférable de sevrer les souriceaux avant la mise bas de la prochaine portée. Si les souriceaux ne sont pas suffisamment gros pour être sevrés, il est possible de les laisser quelques jours supplémentaires avec la mère, en surveillant le développement de la seconde portée.
- Autant que possible, ne pas sevrer un animal seul. Si on doit jumeler de jeunes mâles provenant de portées différentes, ils doivent être sevrés et transférés avant 35-40 jours d'âge.
- Les souriceaux nouvellement sevrés doivent faire l'objet d'un suivi afin de s'assurer qu'ils ont accès à l'eau, à la nourriture et au matériel de nidification. Au besoin, il est possible de mettre de la nourriture dans le fond de la cage, d'allonger le bec de la bouteille d'eau ou d'ajouter de l'hydrogel.



Remplacement des géniteurs

- Il n'est pas recommandé de remplacer tous les reproducteurs simultanément. Les géniteurs d'âge variés sont privilégiés afin de maintenir une bonne gestion de la colonie et une rotation des couples.
- Les reproducteurs doivent être remplacés lorsque :
 - Le couple n'a pas produit de souriceaux après 60 jours d'accouplement.
 - Le nombre de souriceaux dans les portées diminue.
 - Le taux de mortalité infantile augmente.
 - La femelle reproductrice fait du cannibalisme de façon répétée.
 - La femelle a atteint 7 mois d'âge ou qu'elle ait eu 5-6 portées.
 - Le mâle a passé l'âge d'un an.
 - L'état général des géniteurs n'est pas optimal.

Contrôle des lignées

- Il est souhaitable d'effectuer un génotypage afin d'assurer une meilleure sélection des individus à reproduire. Le prélèvement de tissus (bout d'oreille) est effectué à partir de 14 jours et peut être prélevé aussi à l'âge adulte. Les tissus sont congelés jusqu'à ce qu'ils soient transmis à l'équipe de recherche.
- Lorsque le phénotype est important, choisir l'individu ayant le meilleur aspect général.
- Le rétrocroisement (*Backcross*), effectué entre la 8^e et la 10^e génération, permet d'éviter la dérive génétique.
- Afin d'éliminer les anomalies physiques ou les phénotypes indésirables, il est recommandé de ne pas utiliser les individus qui présentent ces caractéristiques à des fins de reproduction.
- La cryoconservation (congélation du sperme ou d'embryons) est fortement recommandée pour les raisons suivantes :
 - Diminution du nombre d'animaux produits ;
 - Assure la survie de la souche en cas de problème ;
 - Limite la dérive génétique ;
 - Assure la relève de la colonie en cas de baisse de fertilité des individus ;
 - Permet de produire des animaux, tous du même âge et de la même lignée pour les besoins d'un protocole ;
 - Permet de conserver une lignée, sans produire d'animaux, lorsque le protocole n'est pas actif ;
 - Diminution du coût de transport et du stress des animaux.



Tenue de dossiers et inventaires

Le suivi de chaque colonie se fait à l'aide d'une base de données informatique. Il est essentiel d'y inscrire toute modification au fur et à mesure afin de procéder à une saine gestion de colonies (évaluer correctement les besoins, éviter les erreurs, éviter la surpopulation, etc.).

Les principales informations sont inscrites :

- Numéro de souris préétabli
- Lignée
- Identification selon la portée
- Sexe
- Date de naissance
- Âge
- Phénotype ou génotype
- Identification des géniteurs

D'autres feuilles, comme *Euthanasie*, *Reproduction*, *Arrêt de reproduction*, etc., permettent de faire un suivi des actions et des événements survenus dans la colonie. Les données d'un animal ne doivent pas être supprimées.



Annexe I : Fiches d'identification des cages

Fiche Individus

COLONIE						
Lignée :		Sexe + Nbr : ♀ ♂				
#	Punch	ID	Date de N	Couleur	Gén/phén	Particularités
Date début expérimentation			Date fin expérimentation			
Chercheur			Numéro de protocole :			

Fiche Reproduction

REPRODUCTION					
F E M E L L E	F Id :	DDN :	M Id :	DDN :	M Â L E
	Souche :		Souche :		
	Phénotype :		Phénotype :		
Accouplé le	# portée	DDN	Nb bébés	M/F	Date sevrage
	A			/	
	B			/	
	C			/	
	D			/	
Chercheur :			Protocole :		

Fiche Reproducteur

REPRODUCTEUR				
Lignée :		Sexe : ♀ ♂		
ID	Poinçon d'oreille	DDN	Couleur	Génotype/Phénotype
Chercheur :				

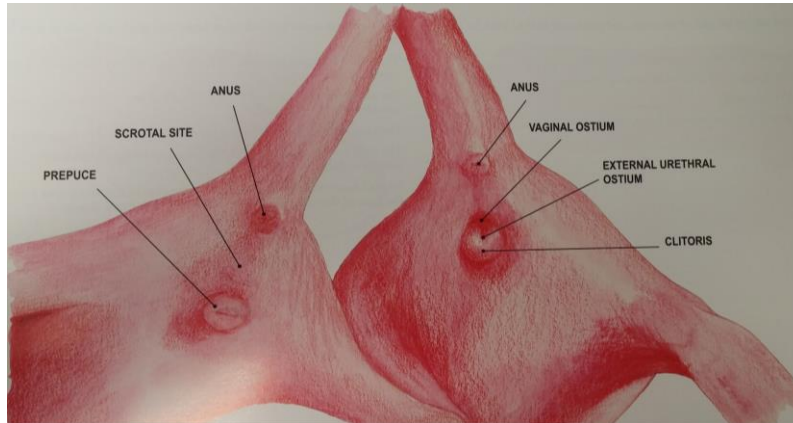
Code des couleurs :

	En reproduction ♀ + ♂
	En reproduction ♀ + ♂ / <u>x</u> continu
	♀ gestante / avec portée
	♀ gestante / avec portée / <u>x</u> continu
	♀ gestante / avec portée +/- réacc ?
	♀ possibilité gestante / sans le mâle

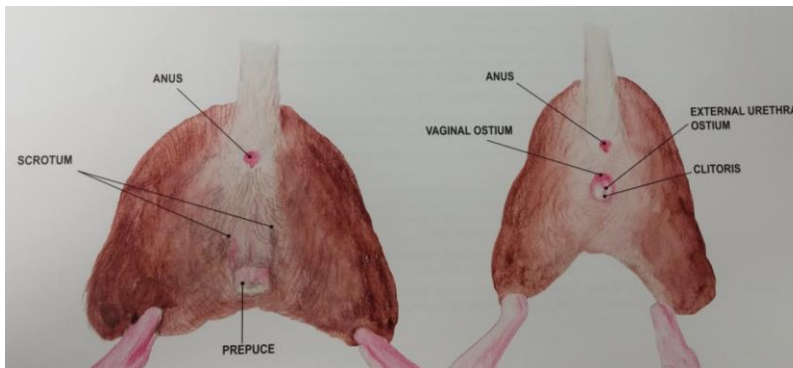
Annexe II Sexe des souris

Âge des souris :

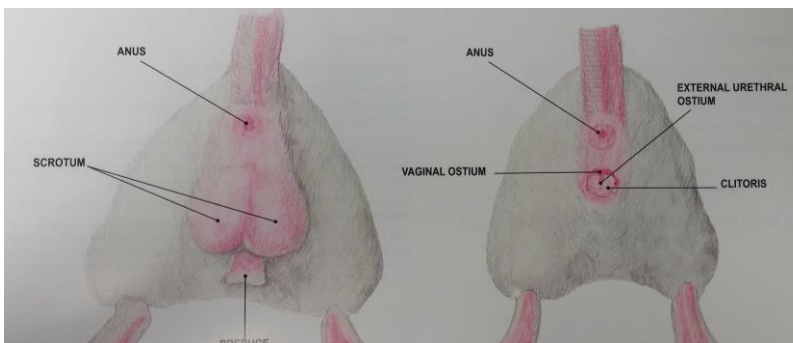
5 jours



11 jours



21 jours



Références

- American Association For Laboratory Animal Science (AALAS) : *TECHNIQUES TRAINING : MOUSE*, Copyright 2011.
- Department of Biology, University of York UK, *Principles of cryopreservation*. PubMed [En ligne] 2007 [consulté le 2017-12-19].
- Gheorghe M., Constantinescu, Duffee N., American Association For Laboratory Animal Science (AALAS) : *COMPARATIVE ANATOMY OF THE MOUSE AND THE RAT*, A color atlas and text, Copyright 2011.
- 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 Manuel, 2009.
- Toulouse, Claudia (modifié par Anne-Marie Catudal en 2018), *Gestion des colonies internes de souris*, Direction des services vétérinaires, Université Laval, Québec, 2015.
- Conseil canadien de protection des animaux, *Lignes directrices du CCPA : les souris*, 2019

Révisée par :

Adjointe au doyen et responsable de l'animalerie :
Mme Fanny Longpré
Technicienne en santé animale :
Mme Christel Perron
Technicienne en santé animale :
Mme Nadia Desnoyers
Vétérinaire :
Dre Dorine Gilbert



Historique des mises à jour :

Version 2	15 novembre 2023	Ajout de la méthode de poinçon d'oreilles afin de récolter les tissus pour le génotypage. Ajout des nouveaux cartons de cages en Annexe II. Ajout de la procédure d'adoption des souriceaux. Ajout de la procédure de gestion des accouplements. Ajout de la procédure de détection de bouchons muqueux. Ajout de la section : Remplacement des géniteurs. Petites corrections dans le texte et nom des «PNF's appropriées» mis à jour.
-----------	------------------	---