



PNF M-01		
Accouplement et gestion de colonie de rongeurs		
Révisée par : Marie-Ève Lebel, Julie Dubeau et Fany DeWilde	Date : Mars 2025	Version : 4.0
Approuvé par le Comité de Protection des Animaux du CRHMR		

1. BUT / OBJECTIF

Le but de cette Procédure Normalisée de Fonctionnement (PNF) est de décrire les principes à respecter lors de la reproduction de rongeurs à l'Animalerie du Centre de Recherche de l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont (ACRHMR).

2. APPLICABLE À / RESPONSABILITÉS

Cette PNF est la responsabilité de tout le personnel qualifié de l'animalerie et des utilisateurs qui procèdent à la reproduction de rongeurs. Le personnel responsable de la gestion de colonie doit lire, comprendre et appliquer cette PNF. Les membres du Comité de Protection des Animaux (CPA) doivent approuver et réviser cette PNF au moins aux 3 ans. La coordonnatrice de l'animalerie doit s'assurer que le personnel et les utilisateurs appliquent cette PNF correctement.

3. INFORMATIONS

Selon les lignes directrices du Conseil Canadien de Protection des Animaux (CCPA) : *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.*

En effet, la reproduction de rongeur génère souvent un nombre inutilement élevé d'animaux non-utilisés, une occupation excessive des espaces d'hébergement, une charge de travail accrue, ainsi que des risques de dérive génétique. Ainsi, la création d'une colonie de souris ne doit pas être la première solution pour acquérir des animaux. En tout temps, **l'achat chez un fournisseur reconnu doit être privilégié**. De plus, **la reproduction de souris sauvages, n'est pas autorisée**, sauf si une justification acceptable est soumise.

Différentes stratégies de reproduction peuvent être utilisées pour la reproduction de souris :

- **Un mâle et une femelle** : fréquent chez les lignées à bonne fécondité.
- **Trio reproducteur** : un mâle et deux femelles. Maximise l'espace pour la reproduction et les mères s'entraident pour élever leurs petits.



- **Rotation des mâles** : un mâle placé avec 1 à 2 femelles par semaine. Utile lorsque la quantité de mâle est limitée ou que ce dernier nuit au bien-être des femelles et/ou des souriceaux. Une fois le mâle retiré, il doit seulement être remis avoir sevré les souriceaux.

Ces stratégies doivent être choisies en fonction des besoins et doivent être adaptées au fur et à mesure de l'évolution de ceux-ci.

Lorsque les souris sont modifiées génétiquement une stratégie doit aussi être établie en lien avec le génotype des animaux qui seront mis en accouplement. Ce choix sera influencé par la viabilité et la fertilité des animaux, ainsi que par le fond génétique de la lignée (congénique vs mixte). Une lignée de souris génétiquement modifiée est considérée congénique lorsque son fond génétique est le même qu'une lignée de souris consanguines. Pour ce faire, la lignée génétiquement modifiée doit avoir été rétrocroisée avec la lignée de souris consanguines pendant au moins 10 générations. Une lignée de souris consanguines, quant à elle, est une lignée obtenue par croisement frère-sœur pendant au moins 20 générations, ce qui permet d'avoir des individus génétiquement identiques. Quelques exemples de lignées consanguines sont les souris C57BL/6, BALB/c ou 129/Sv.

Ainsi, si une lignée de souris KO pour un gène est viable et fertile en tant qu'homozygotes en plus d'être congénique, un croisement **mutant homozygote (-/-) x mutant homozygote (-/-)** pourra être envisagé et les souris consanguines correspondant au fond génétique de cette lignée pourront être utilisées comme contrôle. Ce croisement permettra d'obtenir 100% de souris KO et ne nécessitera donc pas de génotypage.

Cependant, si les mutants homozygotes ne sont pas fertiles ou que la lignée a un fond génétique mixte, il sera préférable d'effectuer un croisement **mutant hétérozygote (-/+) x mutant hétérozygote (-/+)**. Ce croisement donnera 25 % de mutants homozygotes, 50 % d'hétérozygotes et 25 % de type sauvage. Le génotypage est donc nécessaire dans ce type d'accouplement (Consulter la PNF M-02 : Génotypage pour plus de détails) et les compagnons de portés de génotype sauvage peuvent être utilisés comme contrôle.

D'autres possibilités de croisement sont aussi possibles en fonction du type de modification génétique présent (transgène, KO, KI) et des besoins.

Un facteur important à tenir en compte lors de l'accouplement de lignées de souris est **la dérive génétique**. Il s'agit d'un processus naturel d'apparition de mutations spontanées qui créent une variation génétique qui est à la base du processus d'évolution. Certaines de ces mutations sont invisibles, alors que d'autres engendrent des phénotypes visibles (comme un changement de couleur du pelage).

En considérant la fréquence de mutation, il est généralement accepté qu'une mutation ayant un impact significatif surviendra à toutes les 10 générations. Il est donc important de noter adéquatement les informations en liens avec la reproduction des souris et de suivre attentivement leur évolution pour détecter tout signe de dérive génétique et effectuer un rafraîchissement du fond génétique en effectuant fréquemment (à toutes les 5 à 10 générations) des rétrocroisements (à l'aide de souris consanguines provenant d'un fournisseur commercial ayant un programme de stabilité génétique comme JAX ou Charles River). **Attention une C57BL/6N n'est pas une C57BL/6J. En absence de rétrocroisement, une lignée de souris génétiquement modifiée, initialement congénique, ne peut plus être comparée à la lignée consanguine correspondante après 10 générations et sera considérée comme une sous-lignée après 20 générations.

Il est conseillé de cryopréserver les lignes de souris génétiquement modifiées afin d'être en mesure de récupérer la lignée d'origine en cas de problème.



Les souris atteignent leur maturité sexuelle vers l'âge de 6 semaines. Suite à la mise en couple des animaux, l'accouplement peut être confirmé par la présence d'un bouchon vaginal dans 80 à 90 % des cas. Ce bouchon reste en place jusqu'à 48 heures, mais il est préférable de vérifier sa présence tôt le matin, à l'aide d'une pince en ouvrant délicatement le vagin. Lorsqu'un bouchon est détecté, il est aussi possible de peser la femelle à ce moment puis 10 jours plus tard. La gestation sera alors confirmée si un gain d'au moins 2 g est observé. La durée moyenne de la gestation chez la souris est de 19 à 21 jours.

Après la mise-bas, il y a déclenchement d'un œstrus fertile dans les 14 à 28 heures (chaleur post-partum), ce qui permet à la femelle de redevenir gestante rapidement si le mâle reste dans la cage tout au long du processus de reproduction.

Lorsque les femelles sont hébergées sans mâle, il y a disparition de l'œstrus. Cependant, l'introduction d'un mâle provoque la synchronisation des cycles hormonaux de la majorité des femelles, et se manifeste par le déclenchement de l'œstrus trois jours plus tard (effet Whitten).

Enfin, lorsqu'une femelle s'est accouplée récemment, les phéromones d'une souris étrangère mâle, peuvent empêcher l'implantation embryonnaire et par conséquent occasionner un avortement (effet Bruce). Il faut donc être prudent si l'on souhaite changer le mâle utilisé pour la reproduction.

4. DÉFINITIONS

ACRHMR :	Animalerie du Centre de Recherche de l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont
CPA :	Comité de protection des animaux
TSA :	Technicien(ne) en santé animale
Utilisateur :	Membre d'une équipe de recherche utilisant les services de l'animalerie

5. EXEMPLAIRES / FORMULAIRES / ATTACHEMENTS

Annexe I :	Carton de reproducteur
Annexe II :	Carton de reproductrice
Annexe III :	Exemple de fichier de gestion de colonie
Annexe IV :	Procédure de mise en adoption

6. MATÉRIEL / ÉQUIPEMENT

- Cage complète



- Nourriture gestante (Envigo 2919) et normale (Envigo 2918)
- Rouleau de carton et matériel de nidification
- Cartons de reproduction
- Pince d'identification de différentes couleurs
- Fichier de gestion de colonie
- Formulaire F-11 : Registre d'élevage
- Formulaire F-08 : Formulaire de phénotype

7. ÉTAPES / PROCÉDURES

7.1 Planification de la reproduction

- Établir une stratégie d'élevage afin de produire des animaux pour répondre strictement aux besoins expérimentaux et reproducteurs.
 - Déterminer le génotype des animaux qui seront utilisés (Si possible privilégier l'accouplement d'animaux homozygote afin de réduire le nombre d'animaux avec un mauvais génotype et les besoins de génotypage).
 - Déterminer le type d'accouplement (un mâle avec une ou deux femelles).
 - Décider si l'ovulation post-partum sera utilisée (retrait ou non du mâle).
 - Calculer le nombre d'animaux reproducteurs nécessaires en fonction du nombre d'animaux expérimentaux requis.
 - Déterminer la provenance des animaux. (Il est hautement conseillé d'acquérir des animaux de fournisseurs certifiés. Dans le cas de lignée plus difficile à trouver, l'option de l'importation via un autre centre de recherche peut être une option (consulter la PNF A-03 Importation - Exportation pour plus de détails)).
- Soumettre une demande de protocole d'accouplement (formulaire F-04 dans Nagano), ou une demande de modification à votre protocole d'accouplement (formulaire F-06 dans Nagano) en prenant soin de remplir avec attention le formulaire F-08 rapportant toutes les particularités connues de la lignée.
- Obtenir l'approbation du CPA.
- Choisir les individus à mettre en reproduction (Il est fortement recommandé d'utiliser des souris âgées entre 6 et 8 semaines (maximum 12 semaines) pour optimiser les chances de reproduction après quoi, le taux de succès diminue drastiquement. Les femelles provenant de mères peu productives, ainsi que les animaux présentant des problèmes de santé devraient aussi être exclus.

7.2 Mise en couple des souris

- Préparer une cage complète en y ajoutant le type de nourriture selon les particularités de la lignée ou la demande du chercheur et un rouleau de carton (enrichissement qui réduit les risques de morsures au niveau du pénis).
- Effectuer un examen de santé des animaux. Regarder les yeux, vérifier les dents, l'état de chair, ainsi que l'état général. Si une anomalie est détectée, vérifier si un autre individu pourrait être utilisé.



- Transférer le mâle ainsi qu'une partie du nid et des croquettes provenant de sa cage d'origine. Il est important de mettre le mâle en premier, afin qu'il établisse son territoire et ainsi d'augmenter les chances d'accouplement. S'il s'agit d'une lignée plus susceptible aux lésions dans les accouplements, le mâle peut être isolé jusqu'à une semaine avant l'ajout des femelles.
- Ajouter la ou les femelles en prenant soin de ne pas transférer de matériel de nidification de leur cage et de bien les identifier (ajuster leur entaille d'oreille au besoin).
- Remplir les cartons de reproducteur et de reproductrice(s) en s'assurant de retranscrire toutes les informations dont la date de mise en couple et les identifications respectives de chaque souris. (voir les exemples en annexes I et II) et mettre une pince **rouge** sur le porte-carte.
- Mettre à jour le fichier de gestion de colonie.

7.3 Suivi des accouplements et points limites

- Tout au long des accouplements, ajouter une pince blanche lorsque la femelle est gestante, une pince argent pour chaque portée et une pince bleue si la nouvelle naissance n'est pas retranscrite immédiatement.
- Retranscrire toutes les informations dans le fichier de gestion des colonies et effectuer un suivi rigoureux de la capacité reproductrice des souris.
- Remplacer les mâles qui n'engendrent pas de portée ou lorsqu'ils atteignent **12 mois** d'âge.
- Remplacer les femelles à **9 mois d'âge** ou après 5 à 6 portées par femelle en œstrus post-partum, ou 7-8 portées par femelle lorsque le mâle est retiré entre les portées ou s'il y a diminution de fertilité (i.e. diminution de la grosseur des portées à la naissance), ou diminution du nombre de souriceaux sevrés par portée.
- La femelle doit aussi d'être retirée de l'accouplement en cas de dystocie, 2 portées décédées de suite ou un total de 3 portées décédées ou si elle démontre des signes de détresse avant même que le nombre maximal permis de portées soit atteint.

7.4 Sevrage

- Effectuer le sevrage des bébés à **20 jours +/- 1 jour d'âge**. Dans les accouplements utilisant l'œstrus post-partum, s'assurer que la **portée plus âgée soit retirée avant la nouvelle mise-bas**, autrement cela pourrait entraîner la perte des nouveaux bébés.
- Dans les colonies dont le personnel de recherche est en charge de la gestion, si le sevrage **n'est pas effectué à 24 jours d'âge**, le personnel de l'animalerie devra s'en charger. Cette tâche sera alors facturée au chercheur selon le tarif horaire en vigueur.
- Si les bébés sont trop petits au moment du sevrage, il est possible de les laisser avec leur mère pendant quelques jours de plus (max. 7 jours; donc 28 jours d'âge) si elle ne met pas au monde une autre portée entre-temps. Autrement, les bébés légèrement petits, mais pouvant boire et s'alimenter



seuls, peuvent être sevrés avec un supplément alimentaire journalier. Dans ce cas, ouvrir un cas clinique et effectuer un suivi pour vérifier leur croissance et de leur niveau d'hydratation régulièrement.

7.5 Fichier de gestion de colonie et registre d'élevage

Dès la mise en place d'une colonie de souris, un fichier de gestion de colonie doit être créé pour faire un contrôle adéquat du nombre d'animaux. Ce fichier de gestion de colonie doit être facilement accessible au personnel du laboratoire, ainsi qu'à la TSA en charge de la gestion de colonie. Ce fichier doit être mis régulièrement à jour et refléter le plus fidèlement possible le nombre de souris présentes à l'animalerie (voir annexe III pour un exemple de fichier de gestion de colonie).

C'est grâce au fichier de gestion de colonie que le registre d'élevage (F-11), comptabilisant les animaux produits, utilisés et euthanasiés au cours d'une année civile, pourra être rempli. Le registre d'élevage doit être envoyé au CPA **avant le 30 janvier** de l'année suivante à l'adresse cpa.hmr@ssss.gouv.qc.ca.

Tous les registres d'élevage doivent ensuite être comptabilisés dans le formulaire d'utilisation des animaux d'expérimentation. Ce formulaire sera envoyé au Conseil Canadien de Protection des Animaux, afin que ce dernier puisse préparer des rapports accessibles à la population canadienne et ainsi contribuer à une meilleure compréhension de l'utilisation d'animaux en science au Canada.

7.6 Méthodes pour aider une lignée peu fertile ou sans portée

Une réduction des performances de reproduction et/ou un changement du comportement (hyperactivité) peut coïncider avec des changements de conditions météorologiques et de pression atmosphérique, des travaux ou un changement de personnel (certaines souches produisent moins de portées en hiver et en automne qu'au printemps et en été). Si les problèmes de reproduction sont récents et ne concordent avec aucun changement, la dérive génétique pourrait être en cause. Dans ce cas, effectuer un rétrocroisement de la lignée à l'aide de souris consanguines correspondant au fond génétique de la lignée et provenant d'un fournisseur commercial ayant un programme de stabilité génétique.

Si aucune portée n'est produite après un à deux mois, remplacer les reproducteurs. Par exemple, il est possible que le fondateur transgénique soit stérile (par exemple absence de vagin) en raison des conséquences de l'expression du transgène ou de raisons inconnues.

S'il y a eu des portées, mais que celle-ci sont décédées, ajouter de l'enrichissement et isoler le mâle lorsque la femelle est sur le point de mettre bas. Ne pas remettre le mâle dans la cage avant le sevrage des petits.

Lorsqu'une lignée de souris produit peu de bébés ou beaucoup de bébés trop petits, plusieurs actions peuvent être effectuées. Si cette lignée est déjà reconnue comme étant peu fertile par le fournisseur, celui-ci va habituellement suggérer plusieurs stratégies qui pourraient être mises en place dès l'acquisition des animaux. Voici quelques stratégies pouvant aider à obtenir des souris en santé :

- 1- Utiliser de la nourriture pour souris gestantes (plus grasse).
- 2- Pour augmenter le taux de survie et la taille des bébés, ajouter un support nutritif supplémentaire (Nutrical®, Dietgel®, graines de tournesol stérilisées, DietGel Prenatal®) du début de la grossesse, jusqu'au sevrage. (Retirer le mâle s'il empêche les autres souris d'y avoir accès.)



- 3- Si la mère ne produit pas de lait, utiliser une mère nourrice (essayer de synchroniser les gestations des deux mères). Privilégier une mère nourrice dont les petits ne sont pas trop nombreux, ne deviennent pas trop gros et peuvent être utilisés dans un projet de recherche. Si nécessaire euthanasier une partie de la portée de la mère nourrice pour limiter la compétition entre les bébés et ajouter un support nutritif.
- 4- Si la mère est peu maternelle considérer de mettre les bébés en adoption (Voir l'annexe IV pour plus de détails)
- 5- Diminuer les sources potentielles de stress :
 - Garder les mâles et les femelles ensemble autant que possible pour maximiser la reproduction et réduire le stress.
 - Limiter les manipulations des cages, en particulier avec les femelles sur le point de mettre bas ou avec de nouvelles portées, et agir avec délicatesse (identifier la cage à cet effet). Les mères stressées sont plus susceptibles de cannibaliser ou d'abandonner leurs petits
 - Ajouter de l'extra-enrichissement (consulter la PNF P-07)
 - Maximisez l'obscurité. Déplacer les cages dans l'endroit le plus sombre disponible. S'assurer que le cycle d'obscurité est maintenu une fois les lumières éteintes (pas de circulation dans les pièces d'hébergement entre 18h et 6h).
 - Éloigner les cages des endroits passants ou bruyants

8. RÉFÉRENCES / PROCÉDURES CONNEXES

CCPA. *Lignes directrices du CCPA : les souris* (2019)

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

<https://www.jax.org/jax-mice-and-services/customer-support/technical-support/breeding-and-husbandry-support> (2024)

Charles River Laboratories International Inc, <https://www.criver.com/sites/default/files/resources/RM-CS-how-to-refresh-your-mutant-or-transgenic-mouse-strains-FR.pdf> (2018)

<https://www.jax.org/jax-mice-and-services/customer-support/technical-support/breeding-and-husbandry-support/considerations-for-choosing-controls>

9. HISTORIQUE DES MODIFICATIONS

Date	Modifications	Version
2017-05-16	Révision de la PNF	2.0
2021-06-08	Refonte de la PNF (inclusion de la dérive génétique, de la gestion de colonie et changement du titre)	3.0
2025-03-06	Mise à jour	4.0



ANNEXE I : carton de reproducteur

♂ Reproducteur			EE: +ED, CR, CO, AT, CU, OS, GT		
M. P. Boucher			cage# A131		
#Protocole 2022-9876					
Lignée C57bl6			ear tag 105 (-)		
DOB 14-03-2021			#cage orig. B6-12		
Accouplement			Commentaires:		
Date	♀	retrait	15-05-21: femelle 115 trouvé DCD		
30-04-21	Rag #115	15-05-21			
20-05-21	Rag #120				

ANNEXE II : carton de reproductrice

♀ Reproductrice				EE: ED, CR, CO, AT, CU, OS, GT, + ASP		
Chercheur : Larrivée				Cage # : B6S JL.11		
Protocole : 2024-2536				DOB : 2024-02-01		
Lignée : B6.SJL				Ear tag : 125, D		
Accouplement				Bébés naissants		
Date	♂	Retrait	Litt	DOB	Nb bb	Commentaires
24-05-01	117		1	24-05-25	10	6 F, 4 M
			2	24-06-21	8- 7	3 F, 4 M (1F DCD)



ANNEXE III : Fichier de gestion de colonie (section accouplement)

LIGNÉE T492A CRISPR									Date						
2021-06-08															
cage	provenance mâle	génotype	DOB	âge	provenance femelle	génotype	DOB	âge	date mise en couple	nb semaines	naissances	date de sevrage	sevrés le...	nb M	nb F
T-ACC-20 T-21	BAP1 T492A CRISP 307				charles River						2021-03-11	2021-03-31	2021-03-30	7	3
	c57BL/6 T492A 307	+/-	16-11-20	29,143	c57BL/6 WT	+/*	10-12-20	25,71	2021-02-03	17,86					
T-ACC-20 T-22	BAP1 T492A CRISP 308				charles River						2021-03-10	2021-03-30	2021-03-29	2	8
	c57BL/6 T492A 308	+/-	16-11-20	29,143	c57BL/6 WT	+/*	10-12-20	25,71	2021-02-03	17,86	2021-04-06	2021-04-26	2021-04-27	0	2
T-ACC-20 T-23	BAP1 LoxP +/-				BAP1 T492A +/- 353 et BAP1 T492A +/- 355						2021-04-29	2021-05-19	2021-05-18	6	9
	c57BL/6 WT	+/*		8	c57BL/6 T492A 353 et 355	+/-	12-02-21	16,57	2021-04-09	8,57					

ANNEXE IV : Procédure de mise en adoption

1. Trouver une femelle allaitante avec des bébés d'environ le même âge et de la même lignée que ceux à faire adopter. Idéalement, choisir une femelle ayant moins de 6 bébés.
2. Frotter ses doigts dans la litière de la maman adoptive pour imprégner votre odeur de celle du nid.
3. Transférer les bébés à faire adopter dans le nid de la maman adoptive.
4. Faire uriner la ou les mamans adoptives ainsi que le mâle sur tous les bébés afin de les marquer avec leur odeur.
5. Si aucune maman de la même lignée n'est disponible et que les bébés ne sont pas jugés précieux, euthanasier les bébés orphelins
6. Si aucune maman de la même lignée n'est disponible, mais que les bébés sont considérés comme PRÉCIEUX (mention indiquée sur la cage), les placer en adoption dans une autre lignée.