



PNF M-12 Points limites

Révisée par : Fany DeWilde et
Geneviève L. Roy

Date : Novembre 2023

Version : 6.0

Approuvé par le Comité de Protection des Animaux du CRHMR

1. BUT / OBJECTIF

L'objectif de cette Procédure Normalisée de Fonctionnement (PNF) est de guider les utilisateurs de l'Animalerie du Centre de Recherche de l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont (ACRHMR) dans la détermination des points limites à respecter lors de l'utilisation d'animaux à des fins de recherche et de faciliter l'élaboration d'un plan de surveillance de la santé et du bien-être animal.

2. APPLICABLE À / RESPONSABILITÉS

Cette PNF est la responsabilité de tout le personnel qualifié de l'ACRHMR et des utilisateurs qui travaillent avec des animaux sous protocoles expérimentaux. Le personnel et les utilisateurs participant aux études utilisant des animaux sous protocoles expérimentaux doivent lire, comprendre et appliquer cette PNF. Cela inclut les personnes impliquées dans l'écriture du protocoles expérimentaux, ainsi que ceux en charge de l'observation et la manipulation des animaux. Les membres du Comité de Protection des Animaux (CPA) doivent approuver et réviser cette PNF au moins aux 3 ans. Les coordonnateurs du CPA et de l'animalerie ainsi que le vétérinaire doivent s'assurer que le personnel et les utilisateurs appliquent cette PNF correctement.

3. INFORMATIONS

Le bien-être des animaux peut être compromis lors de protocoles expérimentaux. Ainsi, des points limites doivent être établis et approuvés par le CPA avant le début de l'étude.

L'établissement de ces critères avant le début d'une expérience permet de limiter les risques d'atteinte au bien-être animal et de prévenir la douleur et la détresse inutiles des animaux tout en garantissant une collecte de données valables précises et fiables. Toute souffrance, toute détresse ou tout inconfort réels ou potentiels des animaux doivent être minimisés ou soulagés en choisissant le point limite le plus précoce compatible avec les objectifs scientifiques de la recherche.

Les points limites sont divisés en trois sous-catégories soit les points limites scientifiques, les points d'intervention éthique et les points limites cumulatifs.



Les points limites scientifiques : indicateurs les plus précoces permettant l'atteinte des objectifs scientifiques ou d'apprentissage. Il est essentiel que les auteurs de protocoles expérimentaux identifient les points limites scientifiques les plus précoces possible afin de réduire les effets des activités scientifiques sur le bien-être des animaux. Les points limites scientifiques peuvent être de nature temporelle, physiologiques ou reliés aux réalisations. Lorsqu'un point limite scientifique est atteint cela dicte la fin de l'étude (ou de l'activité d'apprentissage).

Les points d'intervention éthique : critères observables de la santé des animaux qui indiquent qu'une intervention doit être faite afin d'assurer le bien-être et la santé des animaux. Leur atteinte n'engendre pas automatiquement la fin de l'étude mais plutôt qu'une intervention devrait être faite pour des raisons éthiques. Les points d'intervention éthique spécifiques à l'étude doivent être clairement identifiés dans le protocole avec les actions à prendre. Advenant le cas qu'un point d'intervention éthique non anticipé se présente, les utilisateurs et l'équipe de soins vétérinaires doivent s'entendre sur les actions à prendre.

Les points limites cumulatifs : référence aux expériences cumulatives vécues par un animal au cours de sa vie, qui, après évaluation, nécessite le retrait de celui-ci des activités scientifiques. Ainsi, les protocoles doivent tenir compte de ces points limites pour tout animal faisant l'objet d'expériences scientifiques multiples, dans des activités de longue durée ou dans des activités composées de multiples procédures.

Enfin, la surveillance des animaux est sous la responsabilité à la fois de l'équipe de recherche (ou de l'équipe de formation ou d'enseignement) et de l'équipe de soins vétérinaires. Toutes les personnes impliquées dans l'observation et le suivi des animaux doivent démontrer une connaissance des modifications physiologiques prévues et des signes cliniques et comportementaux pouvant se manifester lorsque le bien-être animal est compromis. Comme des variations de subjectivité dans l'évaluation des animaux peuvent nuire à leur bien-être et affecter les résultats de recherche, il est recommandé que ces personnes se consultent en début d'étude et par la suite sur une base régulière afin de s'assurer qu'il y ait une cohérence dans l'interprétation des observations animales.

Il est donc essentiel de lire la PNF M-06 (Analgésie) afin de connaître et de comprendre les différents critères d'évaluation de la douleur ou de la détresse, le comportement caractéristique de l'espèce observée, ainsi que sur les signes comportementaux de douleur spécifique à chaque espèce.

Note: comme la surveillance peut coïncider avec des jours fériés, de vacances ou de maladie, il faut s'assurer qu'il y a toujours une personne au sein de l'équipe de recherche qui est compétente pour effectuer le suivi des animaux.

4. DÉFINITIONS

ACRHMR :	Animalerie du Centre de Recherche de l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont
CPA :	Comité de Protection des Animaux
IMC :	Indice de Masse Corporel
PNF :	Procédure Normalisée de Fonctionnement
TSA :	Technicien(ne) en Santé Animale



UFC : Unité de Formation Chirurgicale

Utilisateur : Membre d'une équipe de recherche utilisant les services de l'animalerie

5. EXEMPLAIRES / FORMULAIRES / ATTACHEMENTS

Annexe I : Charte du volume tumoral

Annexe II : Évaluation des souris avec des métastases pulmonaires

Annexe III : Point limites liés à l'euthanasie

Annexe IV : Formulaire de traitements médicaux préapprouvés

Annexe V : Exemple d'un plan de surveillance

Annexe VI : Exemple de grille d'évaluation pour tumeur et de feuille de suivi

Annexe VII : Guide d'évaluation de l'indice de masse corporelle (IMC) chez la souris

Annexe VIII : Guide d'évaluation de l'indice de masse corporelle (IMC) chez le rat

Annexe IX : Rapport d'incident

6. MATÉRIEL / ÉQUIPEMENT

N/A

7. ÉTAPES / PROCÉDURES

7.1. Déterminer les points limites de l'étude

Les utilisateurs en collaboration avec les chercheurs ont la responsabilité d'établir les points limites scientifiques, les points d'intervention éthique ainsi que les points limites cumulatifs si applicables. Ceux-ci sont déterminés en fonction de l'hypothèse et de l'objectif de recherche tout en tenant compte du degré d'incidence sur le bien-être animal.

S'il est impossible d'établir au préalable les points limites, faute de données disponibles, une étude pilote (étude préliminaire qui utilise un nombre limité d'animaux) doit être réalisée. Une telle étude doit mettre l'accent sur le bien-être animal et non sur la production de données scientifiques. Par ailleurs, un rapport de fin d'étude pilote doit obligatoirement être soumis au CPA avant de pouvoir débiter le protocole à proprement dit.

7.1.1 Les points limites scientifiques

Le choix des points limites scientifiques doit être appuyé par des références scientifiques ou des travaux antérieurs effectués dans le laboratoire ou le laboratoire d'un collègue.



Exemples de points limites scientifiques

Temporel	Physiologique	Réalisation
<ul style="list-style-type: none"> • 7 jours post-immunisation • 14 jours après implantation tumorale • 60 jours après induction de la maladie 	<ul style="list-style-type: none"> • Atteinte d'un état diabétique • Volume tumorale de 1.8 cm³ • Développement de GVHD • Présence d'un certain pourcentage de cellules leucémiques dans le sang • Un niveau de luminescence mesuré au IVIS • Développement de désordre moteur dans un modèle de Parkinson 	<ul style="list-style-type: none"> • L'étudiant est en mesure de réaliser la technique à apprendre

**Attention, pour les points limites scientifiques d'ordre temporel, une valeur exacte doit être indiquée et respectée. Par exemple, plus de 45 jours post immunisation pour une étude de mémoire immunologique ou plus de 6 semaines post-irradiation pour une chimère hématopoïétique n'est pas acceptable.

Spécificités pour les modèles de tumeurs solides

-Une seule injection de cellules tumorales par animal est autorisée, à moins d'obtenir une autorisation particulière du CPA.

-L'implantation de la tumeur doit se faire sur le côté latéral de la souris, juste au-dessus de la ligne médiane, crânialement au flanc, entre le membre postérieur et le membre thoracique. Le développement de la tumeur à cet endroit interfère moins avec les comportements normaux de la souris (se mouvoir, se nourrir, se toiletter, etc.). Il est également plus difficile de se gratter à cet endroit.

-L'injection des cellules tumorales peut se faire sous anesthésie générale ou non, en désinfectant au préalable le site d'injection avec un petit passage d'alcool 70% - chlorhexidine 2%.

-Dans la mesure du possible, l'étendue de la croissance tumorale doit être limitée tout en permettant le maintien des objectifs scientifiques.

-Les mesures à l'aide du pied de coulisse peuvent varier en fonction de la subjectivité de l'observateur, des différences de compressibilité de la tumeur et selon les variations dans la forme de la tumeur. Idéalement, le même individu devrait mesurer les tumeurs au fil du temps ou opter pour une évaluation par imagerie (ex. IVIS, voir PNF M-19).

-Volume tumoral (masse individuelle) : ne doit pas dépasser **2 cm³** mais le **volume maximal recommandé est de 1,5 cm³**. La formule du volume tumoral recommandé est : $[4/(3*\pi)*(Longueur/2*(Largeur/2)^2)]$. Ainsi, pour une masse de 1cm x 1 cm, le volume est de 0,52 cm³. La charte du volume tumoral permet de connaître rapidement le volume d'une tumeur en fonction des dimensions de largeur et de longueur (voir annexe I).

-Charge tumorale (ex. modèle de métastases mammaires) : somme du volume de chaque masse pris individuellement. Elle ne doit pas dépasser **10% du poids corporel initial** de



l'animal, excluant le poids de la tumeur. Sachant que **1 cm³ de tumeur est équivalent à 1g**, pour une souris de 20 g avec une tumeur de 1.5 cm³, cela équivaut à 7.5% du poids.

Note : lorsque l'objectif de recherche est de valider la réponse des tumeurs à un traitement (chimique, radiologique ou immunologique), dont l'effet thérapeutique attendu est décalé dans le temps, le CPA peut parfois autoriser que la taille ou la charge tumorale dépasse ces valeurs maximales si le bien-être de l'animal peut être maintenu par le biais de points d'intervention. Un tel prolongement de l'expérimentation exige une excellente compréhension des lignées de cellules tumorales et de leurs répercussions sur le bien-être animal.

7.1.2 Les points d'intervention éthique

Les points d'intervention éthique sont déterminés en fonction des diverses altérations (physiques, physiologiques, comportementales) qui sont susceptibles d'être engendrées par le projet de recherche (ou d'apprentissage). Chacun d'entre eux doit intrinsèquement être associé à une mesure d'action visant à protéger le bien-être animal et la séquence des interventions doit également être préalablement déterminée, selon la progression anticipée des effets sur le bien-être. Les points d'intervention éthique doivent être objectifs, mesurables et détectables avant l'apparition d'un état de bien-être défavorable. Ils doivent donc limiter l'incidence sur le bien-être de l'animal tout en permettant d'atteindre les objectifs scientifiques ou d'apprentissage voulus, et donc ultimement l'atteinte des points limites scientifiques.

Exemples de points d'intervention éthique :

Critère d'intervention	Plan d'action
– Déhiscence de plaie chirurgicale	<ul style="list-style-type: none"> • Guérison par seconde intention ou retour en chirurgie sous anesthésie
– Changements de comportement (isolement, perte d'activité, poils ébouriffés)	<ul style="list-style-type: none"> • Évaluation de la douleur (exp. faciales) • Examen complet • Couverture analgésique selon les traitements préapprouvés • Augmenter la fréquence du suivi
– % de perte rapide de poids (15-20%)	<ul style="list-style-type: none"> • Vérifier l'IMC • Examen complet (dents et autres s.c.) • Croquettes humidifiées + DietGel • Augmenter la fréquence du suivi
– Tumeur ulcérée (- de 20% de la surface)	<ul style="list-style-type: none"> • Désinfection à l'aide de Chlorhexidine • Augmenter la fréquence du suivi
– Déshydratation	<ul style="list-style-type: none"> • Injection de fluides isotoniques • Augmenter la fréquence du suivi
– Automutilation (<i>barbering</i> ou plaie)	<ul style="list-style-type: none"> • Ajout d'enrichissement • Traiter les plaies si nécessaire • Couper les griffes si nécessaire • Augmenter la fréquence du suivi



Tableau d'intervention en fonction du poids et de l'Indice de Masse Corporel (IMC) :

% Perte de poids	IMC / 5	Descriptif de l'IMC	Score	Plan d'action
<10	2.75	État de chair non-optimal Et sans ossature proéminente	1	• Peser 1x par semaine
10 ≤15	2.5	État de chair non-optimal Et sans ossature proéminente	2	• Peser 3x par semaine (ex. : lundi, mardi, vendredi) • Traitement de support (ex. : croquettes humidifiées)
15 < 20	2	Os du bassin facilement palpables Segmentation entre les vertèbres	3	• Peser 1x par jour • Traitement de support (ex. : croquettes humidifiées)
≥20	<2	Animal émacié Atrophie musculaire sévère Ossature saillante	4	• Euthanasie

Dans le cas de protocoles expérimentaux engendrant le développement de métastases pulmonaires, comme les signes cliniques peuvent être vagues, il est recommandé d'utiliser les techniques d'imagerie et/ou la technique « Pulmonary Assessment of Advanced Metastasis » (PAAM) pour évaluer la progression des métastases pulmonaires et ainsi éviter toute douleur, détresse ou mortalité (voir l'annexe II pour le détail de la procédure d'évaluation).

Comme les points d'intervention éthique ne sont pas nécessairement synonyme d'euthanasie, il faut aussi tenir compte des critères qui demandent le sacrifice immédiat d'un animal. Ces critères sont établis en fonction de signes cliniques précis. Consulter l'annexe III - Points limites liés à l'euthanasie pour plus d'information. Si l'utilisateur veut conserver des échantillons biologiques, le prélèvement devrait être planifié au préalable pour les animaux qui seront euthanasiés.

Par ailleurs, le formulaire de traitements médicaux préapprouvés doit être rempli et soumis avec le protocole afin que les Technicien(ne)s en Santé Animale (TSA) puissent être en mesure d'intervenir rapidement en cas de problèmes communs et ce sans compromettre l'expérience (voir l'annexe IV).

7.1.3 Les points limites cumulatifs

Les points limites cumulatifs doivent être déterminés lorsque les animaux font l'objet d'expériences scientifiques multiples (ex. : don de rats pour une activité d'enseignement de l'Unité de Formation Chirurgicale (UFC) suite à un projet de recherche), d'activités de longue durée (études portant sur la longévité ou le vieillissement, animaux reproducteurs) ou d'activités composées de multiples procédures. Ces points limites doivent tenir compte des expériences physiques et psychologiques vécues par l'animal et indiquent quand l'animal devrait être retiré des activités scientifiques.



De plus, en matière de Trois R, il est préférable de raffiner avant de réduire. En effet, les animaux ne devraient pas être utilisés au-delà du seuil de leurs points limites cumulés dans le seul but de réduire le nombre total d'animaux utilisés. Les raisons pratiques et de coûts ne doivent pas être invoquées pour justifier les décisions en matière de points limites cumulatifs.

Les points limites cumulatifs pour les études portant sur la longévité ou le vieillissement sont détaillés dans la PNF M-21 souris vieillissantes sous protocole expérimental.

Exemples de points limites cumulatifs

Situation	Point limite
- Protocoles de catégorie d'incidence sur le bien-être D ou E	<ul style="list-style-type: none">• Maximum une expérience éprouvante
- Réutilisation dans des protocoles d'enseignement	<ul style="list-style-type: none">• Les animaux doivent provenir de protocoles expérimentaux de catégorie d'incidence A, B, ou C et ne pas avoir eu de cas clinique récent
- Protocole d'accouplement	<ul style="list-style-type: none">• Maximum 5 portées par femelle en oestrus post-partum• Maximum 7 portées par femelle lorsque le mâle est retiré entre les portées
- Protocole d'accouplement	<ul style="list-style-type: none">• Dystocie
- Protocole d'accouplement	<ul style="list-style-type: none">• 2 portées décédées de suite ou 3 totales
- Souris vieillissantes	<ul style="list-style-type: none">• Score d'index de fragilité supérieur à 0,4

7.2. Établir le plan de surveillance

Le plan de surveillance doit être défini dès l'élaboration du protocole expérimental en se référant à la littérature scientifique, à des études pilotes ou à des spécialistes, et idéalement de concert avec l'équipe des soins vétérinaires. Les points limites scientifiques, d'intervention éthique et cumulatifs, si applicable, ainsi que les actions à prendre doivent être décrits dans le plan de surveillance. Par ailleurs, la fréquence d'observation, les paramètres spécifiques à surveiller ainsi que le nom de la personne en charge de l'observation doivent être indiqués. Il est aussi important de procéder à l'évaluation du bien-être des animaux à une fréquence prédéterminée et proportionnelle au niveau de catégorie de techniques invasives du protocole (Voir la PNF M-04, observation des animaux).

Les feuilles de suivi des animaux doivent être accessibles et gardées en tout temps dans la pièce d'hébergement. Une fois le projet terminé, ces feuilles doivent être conservées pour un minimum d'un an pour consultation ultérieure dans le laboratoire de l'utilisateur (voir les annexes V et VI pour des exemples de plans de surveillance).

Avant toute procédure, au jour 0, il est important de peser chaque animal et de transcrire les pesées sur la feuille de suivi (ou sur une feuille dédiée). La pesée initiale sert de poids de référence pour les prises de mesure subséquentes. Il est à noter que le poids corporel peut ne pas être un bon indicateur d'intervention puisque la présence d'une masse tumorale solide ou d'ascite peut masquer la perte de poids. Dans ce cas, il est préférable de tenir compte de l'IMC (voir les annexes VII et VIII).

La surveillance doit toujours être documentée. Il est essentiel de noter toutes les observations (même celles qui ne présentent pas une atteinte au bien-être de l'animal) et



toutes les interventions effectuées en plus d'écrire le moment de l'observation, d'apposer ses initiales et d'indiquer la date de réévaluation si différente de celle préétablie.

Il faut également respecter la fréquence du suivi des animaux, ainsi que les points limites d'intervention éthique préétablis et ce, tout au long de l'expérience ou de l'activité d'apprentissage. Néanmoins, il peut s'avérer nécessaire de devoir ajuster cette fréquence ainsi que certains points d'intervention éthique et/ou points limites scientifiques pour assurer le bien-être de l'animal. Ces modifications doivent être communiquées immédiatement aux personnes concernées et rapportées lors du renouvellement du protocole.

Tout projet de recherche ou activité d'apprentissage qui ne fonctionne pas comme prévu devrait être suspendu. D'autre part, si un taux de mortalité élevé et inexplicable se produit sur un court laps de temps à l'intérieur d'un groupe expérimental, ceci conduira obligatoirement à un arrêt de toutes les procédures de l'étude afin de comprendre la situation et un rapport d'incident sera rempli (voir annexe IX). Les procédures seront limitées et raffinées en fonction des complications et problèmes notés.

7.3. Analyse rétrospective des points limites

Une fois l'expérience (ou l'activité d'apprentissage) terminée, il est important de faire une analyse rétrospective afin de vérifier l'efficacité des points limites et des actions à prendre afin de maintenir le bien-être animal à un niveau acceptable tout en permettant l'obtention de données scientifiques valides.

Les résultats de l'analyse doivent être soumis au CPA lors du renouvellement, d'une demande de modification ou d'un rapport de fin de protocole. Ils doivent tenir compte des informations recueillies dans les feuilles de suivi animal et des commentaires du personnel impliqué dans les interventions et la surveillance des animaux. Le but étant de continuellement raffiner les points limites scientifiques, les points d'intervention éthique ainsi que les points limites cumulatifs afin de maximiser le bien-être des animaux utilisés en science sans compromettre la pertinence des résultats scientifiques.

Voici des exemples de questions à se poser, tirées des lignes directrices du CCPA :

- Fréquence des interventions : Est-ce que la fréquence de surveillance était suffisante pour réduire l'incidence négative de la recherche chez les animaux ? Si non, pourquoi ?
- Cohérence : Les interventions ont-elles été appliquées de manière cohérente par tous les observateurs ? Si non, pourquoi ?
- Minimisation des répercussions sur le bien-être : Les interventions ont-elles permises d'améliorer ou de maintenir le bien-être animal ? Si non, pourquoi ?
- Intégrité des données : Les points d'intervention éthique ont-ils permis de maintenir la qualité et l'intégrité des données scientifiques ? Si non, pourquoi ?
- Raffinements : Comment les points d'intervention éthique choisis peuvent-ils être raffinés ? Quelles données pourraient être recueillies à l'avenir pour permettre une amélioration ?



8. RÉFÉRENCES / PROCÉDURES CONNEXES

CCPA. Lignes directrices du CCPA : la détermination de points limites scientifiques, de points d'intervention éthique, et de points limites cumulatifs (mars 2022).

https://ccac.ca/Documents/Normes/Lignes_directrices/Lignes_directrices_du_CCPA_sur_la_determination_de_pointes_limites_scientifiques.pdf

Tokarew and al. "Flow cytometry detection and quantification of CAR T cells into solid tumors". Chapter 6 in *Methods in Cell biology* (2021)

Hickman, Debra L et Swan Melissa. "Use of a Body Condition Score Technique to Assess Health Status in a Rat Model of Polycystic Kidney Disease". *JALAAS*. Vol.49, no°2 (2010)

Langford et all. "Coding of Facial Expressions of Pain in the Laboratory Mouse". *Nature America Inc*. Vol 7 no°6 (2010)

Mendoza et al. "A Novel Noninvasive Method for Evaluating Experimental Lung Metastasis in Mice". *JALAAS*. Vol.52, no°5 (2013)

[Morton David B. "A Systemic Approach for Establishing Humane Endpoints". *ILAR Journal*. Vol. 41, no°2 \(2000\) https://academic.oup.com/ilarjournal/article/41/2/80/747882](https://academic.oup.com/ilarjournal/article/41/2/80/747882)

UBC ACC: Guideline on Rodents with Ulcerated Subcutaneous Tumours: Protocol Requirements, Monitoring, Managing and Humane Endpoints (2018)

<https://animalcare.ubc.ca/sites/default/files/documents/Tumour%20Ulceration%20Guideline%202018%20final.pdf>

Ullman-Cullere, M.H. and Foltz, C.J. "Body Condition Scoring: A Rapid and Accurate Method for Assessing Health Status in Mice". *Lab. Animal Science*. Vol 49, no°3 (1999)

Workman P. et al. « Guidelines for the welfare and use of animals in cancer research". *British Journal of Cancer*. Vol.102, no°11 (2010)

9. HISTORIQUE DES MODIFICATIONS

Date	Modifications	Version
2012-04-01	Création par Marie-Josée Guyon	1.0
2016-03-29	Modifié par André-François Couture	2.0
2019-09-01	Modifié par Geneviève L. Roy	3.0
2019-04-01	Mise à jour par Geneviève L. Roy	4.0
2020-06-22	Mise à jour par Geneviève L. Roy	5.0
2023-09-25	Refonte de la PNF en fonction des nouvelles lignes directrices du CCPA	6.0

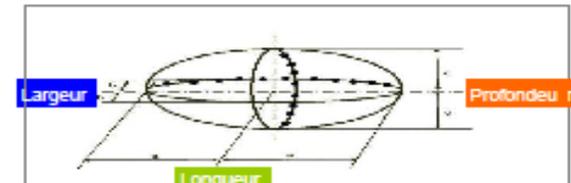


ANNEXE I : Charte du volume tumoral

		Largeur (La plus petite mesure en cm)																														
		0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0	1,1	1,2	1,3	1,4	1,5	1,6	1,7	1,8	1,9	2,0	2,1	2,2	2,3	2,4	2,5	2,6	2,7	2,8	2,9	3,0	
Longueur (La plus grande mesure en cm)	0,1	0,00																														
	0,2	0,00	0,00																													
	0,3	0,00	0,01	0,01																												
	0,4	0,00	0,01	0,02	0,03																											
	0,5	0,00	0,01	0,02	0,04	0,07																										
	0,6	0,00	0,01	0,03	0,05	0,08	0,11																									
	0,7	0,00	0,01	0,03	0,06	0,09	0,13	0,18																								
	0,8	0,00	0,02	0,04	0,07	0,10	0,15	0,21	0,27																							
	0,9	0,00	0,02	0,04	0,08	0,12	0,17	0,23	0,30	0,38																						
	1,0	0,01	0,02	0,05	0,08	0,13	0,19	0,26	0,34	0,42	0,52																					
	1,1	0,01	0,02	0,05	0,09	0,14	0,21	0,28	0,37	0,47	0,58	0,70																				
	1,2	0,01	0,03	0,06	0,10	0,16	0,23	0,31	0,40	0,51	0,63	0,76	0,90																			
	1,3	0,01	0,03	0,06	0,11	0,17	0,25	0,33	0,44	0,55	0,68	0,82	0,98	1,15																		
	1,4	0,01	0,03	0,07	0,12	0,18	0,26	0,36	0,47	0,59	0,73	0,89	1,06	1,24	1,44																	
	1,5	0,01	0,03	0,07	0,13	0,20	0,28	0,38	0,50	0,64	0,79	0,95	1,13	1,33	1,54	1,77																
	1,6	0,01	0,03	0,08	0,13	0,21	0,30	0,41	0,54	0,68	0,84	1,01	1,21	1,42	1,64	1,88	2,14															
	1,7	0,01	0,04	0,08	0,14	0,22	0,32	0,44	0,57	0,72	0,89	1,08	1,28	1,50	1,74	2,00	2,28	2,57														
	1,8	0,01	0,04	0,08	0,15	0,24	0,34	0,46	0,60	0,76	0,94	1,14	1,36	1,59	1,85	2,12	2,41	2,72	3,05													
	1,9	0,01	0,04	0,09	0,16	0,25	0,36	0,49	0,64	0,81	0,99	1,20	1,43	1,68	1,95	2,24	2,55	2,88	3,22	3,59												
	2,0	0,01	0,04	0,09	0,17	0,26	0,38	0,51	0,67	0,85	1,05	1,27	1,51	1,77	2,05	2,36	2,68	3,03	3,39	3,78	4,19											
	2,1	0,01	0,04	0,10	0,18	0,27	0,40	0,54	0,70	0,89	1,10	1,33	1,58	1,86	2,16	2,47	2,81	3,18	3,56	3,97	4,40	4,85										
	2,2	0,01	0,05	0,10	0,18	0,29	0,41	0,56	0,74	0,93	1,15	1,39	1,66	1,95	2,26	2,59	2,95	3,33	3,73	4,16	4,61	5,08	5,58									
	2,3	0,01	0,05	0,11	0,19	0,30	0,43	0,59	0,77	0,98	1,20	1,46	1,73	2,04	2,36	2,71	3,08	3,48	3,90	4,35	4,82	5,31	5,83	6,37								
	2,4	0,01	0,05	0,11	0,20	0,31	0,45	0,62	0,80	1,02	1,26	1,52	1,81	2,12	2,46	2,83	3,22	3,63	4,07	4,54	5,03	5,54	6,08	6,65	7,24							
	2,5	0,01	0,05	0,12	0,21	0,33	0,47	0,64	0,84	1,06	1,31	1,58	1,88	2,21	2,57	2,95	3,35	3,78	4,24	4,73	5,24	5,77	6,34	6,92	7,54	8,18						
	2,6	0,01	0,05	0,12	0,22	0,34	0,49	0,67	0,87	1,10	1,36	1,65	1,96	2,30	2,67	3,06	3,49	3,93	4,41	4,91	5,45	6,00	6,59	7,20	7,84	8,51	9,20					
	2,7	0,01	0,06	0,13	0,23	0,35	0,51	0,69	0,90	1,15	1,41	1,71	2,04	2,39	2,77	3,18	3,62	4,09	4,58	5,10	5,65	6,23	6,84	7,48	8,14	8,84	9,56	10,31				
	2,8	0,01	0,06	0,13	0,23	0,37	0,53	0,72	0,94	1,19	1,47	1,77	2,11	2,48	2,87	3,30	3,75	4,24	4,75	5,29	5,86	6,47	7,10	7,76	8,44	9,16	9,91	10,69	11,49			
	2,9	0,02	0,06	0,14	0,24	0,38	0,55	0,74	0,97	1,23	1,52	1,84	2,19	2,57	2,98	3,42	3,89	4,39	4,92	5,48	6,07	6,70	7,35	8,03	8,75	9,49	10,26	11,07	11,90	12,77		
	3,0	0,02	0,06	0,14	0,25	0,39	0,57	0,77	1,01	1,27	1,57	1,90	2,26	2,65	3,08	3,53	4,02	4,54	5,09	5,67	6,28	6,93	7,60	8,31	9,05	9,82	10,62	11,45	12,32	13,21	14,14	

Formule pour le calcul du volume tumoral : $(4/3 * (3.14159) * (Longueur/2) * (Largeur/2)^2)$

Largeur	Mesurer l'axe le plus court
Longueur	Mesurer l'axe le plus long
Profondeur	Ne pas calculer via la profondeur, utiliser plutôt la plus petite mesure (largeur) en calculant : $(largeur / 2)^2$
	Volume de la tumeur approche 1,5 cm ³
	Volume de la tumeur approche ou excède 2,0 cm ³

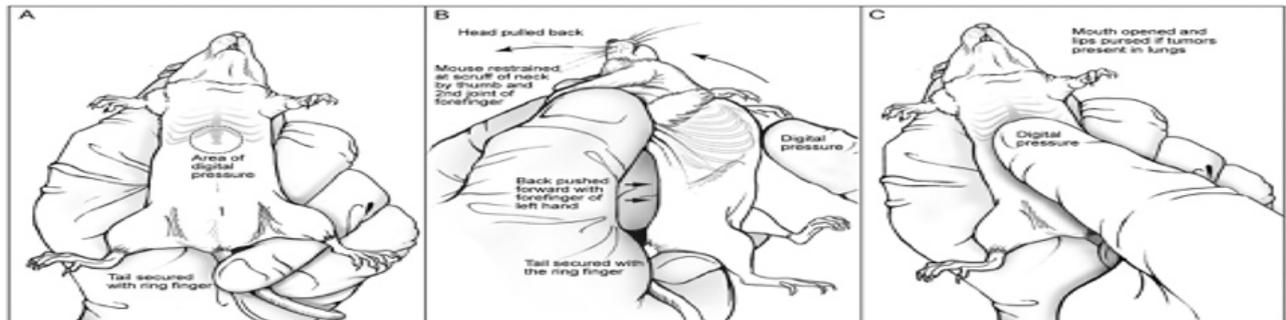




ANNEXE II : Évaluation des souris avec des métastases pulmonaires

La technique PAAM est simple mais efficace et permet l'identification d'une charge tumorale métastatique élevée avant le développement d'une morbidité ou mortalité importante due aux métastases. Les souris avec une telle charge peuvent présenter aucun signe clinique jusqu'à ce qu'elles soient retrouvées mortes ou qu'elles développent rapidement des signes cliniques avancés.

Description schématique étape par étape de la technique PAAM :



Source : JAALAS (2013), vol 52 (5), p. 584–589

- 1) Bien contentionner la souris en utilisant le pouce et l'index de la main non dominante.
- 2) B) Appliquer, à l'aide de l'index de la main dominante, une pression numérique juste caudale au sternum xiphoïde.
- 3) C) Maintenir une pression faible à modérée durant 3 secondes.

Chez la souris normale :

- Cette pression numérique n'entraîne aucune réponse ou une légère augmentation de la fréquence respiratoire. (Résultat de l'évaluation PAAM = négative)

Chez la souris présentant une charge métastatique pulmonaire importante :

- Les 3 secondes de pression numérique décrites entraînent une augmentation prononcée de l'excursion thoracique pendant la respiration ou de la respiration agonale, c.à.d. une respiration bouche ouverte, le souffle coupé. (Résultat de l'évaluation PAAM = positive)

Les souris développent généralement des signes cliniques avancés dans les 1 ou 2 jours suivant une évaluation positive de la PAAM.



ANNEXE III : Point limites liés à l'euthanasie

Les points liés à l'euthanasie
• Anorexie sévère ou qui persiste malgré les traitements mis en place.
• Indice de masse corporel (IMC) de 1 sur 5.
• Perte de poids supérieure à 20% avec un IMC de ≤ 2 sur 5.
• Perte de poids ininterrompue pendant plus de 5 jours avec un IMC de ≤ 2 sur 5.
• Perte de poids rapide ou progressive de plus de 15% du poids initial (jeune animal).
• Déshydratation sévère ou qui persiste malgré les traitements mis en place.
• Pâleur extrême des muqueuses, des yeux ou des extrémités (anémie).
• Détresse respiratoire : respiration laborieuse, abdominale, cyanose.
• Infection, rhinite, conjonctivite ou ulcère cornéen sévère ou ne répondant pas aux traitements.
• Hypothermie (perte de 6°C chez les rongeurs) ou hyperthermie sévère (+/- 2°C) ou non-contrôlée.
• État moribond ou comateux, léthargie, incapacité à répondre à des stimuli.
• Condition qui empêche l'animal de boire, se nourrir, se déplacer ou se toiletter normalement et ce, de façon prolongée ou permanente.
• Pelage anormal (ex. poils sévèrement ébouriffés, absence de toilettage, alopecie sévère (33%)).
• Automutilation, vocalisations, posture et/ou comportements anormaux qui ne peuvent être soulagés ou traités.
• Plaie ouverte ou infectée, fracture, entorse ou autre trauma qui ne peut pas être soulagé ou traité.
• Dermatite ou lésions cutanées infectées qui affectent plus de 20 % de la surface corporelle.
• Ganglions lymphatiques de grosseur anormale, splénomégalie.
• Hémorragie sévère ou incontrôlable.
• Distension abdominale significative, abdomen compressé contre le fond de la cage avec/sans extension des membres postérieurs.
• Présence de mucus ou sang dans les fèces intraitable.
• Incontinence, urémie ou blocage urinaire.
• Diarrhée, constipation ou stase digestive intraitable.
• Prolapse anal ou vaginal progressant vers une nécrose ou un dommage tissulaire.
• Vomissement sévère ou incontrôlable (chat).
• Ataxie (troubles de coordination), tournis, tête penchée, paralysie.
• Crises épileptiformes non-contrôlées.
• Hydrocéphalie, malocclusion ou anomalie dentaire sévère empêchant de se nourrir.
• Dystocie où la césarienne ne peut être envisageable.
• État de dysfonctionnement d'organes (ex. cardiaque, hépatique, rénale).
• Hyperactivité sévère et permanente.



TRAITEMENTS MÉDICAUX PRÉAPPROUVÉS POUR RONGEURS

Chercheur : _____ # du protocole (s) : _____

1) Si vous n'autorisez pas un traitement proposé, svp faire une brève justification (p.ex., interfère avec l'expérimentation (IE), euthanasie (Euth), etc.).

2) Vous pouvez également ajouter des traitements préapprouvés ou apporter des précisions quant au traitement autorisé.

Conditions	Traitements	Autorisation	Note - Justification
- Anorexie - Déshydratation - Maigreux - Dos voûté - Perte d'activité - Poils ébouriffés * Traitements également pour sourceaux petits au sevrage	Lactate de Ringer (LRS) (recommandé)	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	
	Solution saline 0.9%	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	
	Dextrose 5%	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	
	Nourriture humide	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	
	Supplément alimentaire (DietGel Recovery®, Ensure®, Nutrical®, Lait pour chaton)	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	
	HydroGel	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	
- Signes de douleur : <ul style="list-style-type: none"> • Dos voûté • Yeux mi-clos • Poils ébouriffés • ↓ activité / de nidification • Vocalisation, etc. 	Buprénorphine	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	
	Buprénorphine SR	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	
	Tramadol	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	
	Gabapentin	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	
- Inflammation/douleur	Meloxicam (AINS)	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	
- Démangeaisons - Dermatite	Dermacool™ - Spray (Lidocaïne 1.5%)	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	
	Tobradex® (avec corticoïde)	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	
	BNPH® (avec corticoïde)	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	
	DOUXO® Calm Serum Ceva	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	
- Désinfection de plaie	Chlorhexidine	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	
- Erythème - Lésion ulcéralive - Brûlure - Plaie infectée.	Flamazine®	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	
	Hibitane® en crème	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	
	BNP®	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	
- Lésion ulcéralive - Plaie de bataille ou suintante	Argile verte	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	
- Lésion ulcéralive - Plaie de bataille	Aluspray®	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	
- Peau sèche - Abrasion superficielle - Irritation interdigitale - Pododermatite	Dermoscent Bio-Balm®	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	
- Retrait de tag - Incision de peau - Rupture d'abcès - Bouchon de pus a/n du pénis	Lidocaïne 2% - Bupivacaine 0.5% (Macrine) - Solution 1:1	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	
- Conjonctivite - Blépharite - Prolapse (Anal, vaginal ou pénis) - Lésion	BNP®	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	
	BNPH® (avec corticoïde)	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	
	Tobrex®	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	
	Tobradex® (avec corticoïde)	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	
	Meloxicam (AINS)	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	
	Préparation H (prolapse anal)	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	
- Lubrification (yeux – muqueuses - plaie)	Opticare Gel®	<input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	

Signature : _____ Date : _____



ANNEXE V : Exemple de plan de surveillance général

Chercheur :	Responsable :	#Protocole :	#Cage :
Lignée :	Nb d'animaux (encercler) : 1 – 2 – 3 – 4 – 5	#Pièce :	
Projet:	Date d'injection : - -	Traitement si applicable : _____	date : - - - - voie : _____
Fréquence du suivi initiale:	Fin de l'expérience : - - - -	Points limites :	

POIDS INITIAUX :	# = E	# = E	# = E	# = E	# = E
------------------	-------	-------	-------	-------	-------

Date (jj-mm-aa)												
#Souris												
S/O												
Attitude												
Activité/Posture												
Expression faciale												
Comportement												
Hydratation												
Pelage												
Extrémité												
IMC												
% perte poids												
Respiratoire												
A												
Pointage												
D												
Actions Traitements Commentaires	<input type="checkbox"/> BM X ___ Jrs <input type="checkbox"/> DG X ___ Jrs	<input type="checkbox"/> BM X ___ Jrs <input type="checkbox"/> DG X ___ Jrs	<input type="checkbox"/> BM X ___ Jrs <input type="checkbox"/> DG X ___ Jrs	<input type="checkbox"/> BM X ___ Jrs <input type="checkbox"/> DG X ___ Jrs	<input type="checkbox"/> BM X ___ Jrs <input type="checkbox"/> DG X ___ Jrs	<input type="checkbox"/> BM X ___ Jrs <input type="checkbox"/> DG X ___ Jrs	<input type="checkbox"/> BM X ___ Jrs <input type="checkbox"/> DG X ___ Jrs	<input type="checkbox"/> BM X ___ Jrs <input type="checkbox"/> DG X ___ Jrs	<input type="checkbox"/> BM X ___ Jrs <input type="checkbox"/> DG X ___ Jrs	<input type="checkbox"/> BM X ___ Jrs <input type="checkbox"/> DG X ___ Jrs	<input type="checkbox"/> BM X ___ Jrs <input type="checkbox"/> DG X ___ Jrs	<input type="checkbox"/> BM X ___ Jrs <input type="checkbox"/> DG X ___ Jrs
	#ID : <input type="checkbox"/> LRS ___ ml SC SID STAT ou X ___ Jrs <input type="checkbox"/> Autre : <input type="checkbox"/> Contact labo <input type="checkbox"/> Euthanasie = # : <input type="checkbox"/> Résolution = # :	#ID : <input type="checkbox"/> LRS ___ ml SC SID STAT ou X ___ Jrs <input type="checkbox"/> Autre : <input type="checkbox"/> Contact labo <input type="checkbox"/> Euthanasie = # : <input type="checkbox"/> Résolution = # :	#ID : <input type="checkbox"/> LRS ___ ml SC SID STAT ou X ___ Jrs <input type="checkbox"/> Autre : <input type="checkbox"/> Contact labo <input type="checkbox"/> Euthanasie = # : <input type="checkbox"/> Résolution = # :	#ID : <input type="checkbox"/> LRS ___ ml SC SID STAT ou X ___ Jrs <input type="checkbox"/> Autre : <input type="checkbox"/> Contact labo <input type="checkbox"/> Euthanasie = # : <input type="checkbox"/> Résolution = # :	#ID : <input type="checkbox"/> LRS ___ ml SC SID STAT ou X ___ Jrs <input type="checkbox"/> Autre : <input type="checkbox"/> Contact labo <input type="checkbox"/> Euthanasie = # : <input type="checkbox"/> Résolution = # :	#ID : <input type="checkbox"/> LRS ___ ml SC SID STAT ou X ___ Jrs <input type="checkbox"/> Autre : <input type="checkbox"/> Contact labo <input type="checkbox"/> Euthanasie = # : <input type="checkbox"/> Résolution = # :	#ID : <input type="checkbox"/> LRS ___ ml SC SID STAT ou X ___ Jrs <input type="checkbox"/> Autre : <input type="checkbox"/> Contact labo <input type="checkbox"/> Euthanasie = # : <input type="checkbox"/> Résolution = # :	#ID : <input type="checkbox"/> LRS ___ ml SC SID STAT ou X ___ Jrs <input type="checkbox"/> Autre : <input type="checkbox"/> Contact labo <input type="checkbox"/> Euthanasie = # : <input type="checkbox"/> Résolution = # :	#ID : <input type="checkbox"/> LRS ___ ml SC SID STAT ou X ___ Jrs <input type="checkbox"/> Autre : <input type="checkbox"/> Contact labo <input type="checkbox"/> Euthanasie = # : <input type="checkbox"/> Résolution = # :	#ID : <input type="checkbox"/> LRS ___ ml SC SID STAT ou X ___ Jrs <input type="checkbox"/> Autre : <input type="checkbox"/> Contact labo <input type="checkbox"/> Euthanasie = # : <input type="checkbox"/> Résolution = # :	#ID : <input type="checkbox"/> LRS ___ ml SC SID STAT ou X ___ Jrs <input type="checkbox"/> Autre : <input type="checkbox"/> Contact labo <input type="checkbox"/> Euthanasie = # : <input type="checkbox"/> Résolution = # :	#ID : <input type="checkbox"/> LRS ___ ml SC SID STAT ou X ___ Jrs <input type="checkbox"/> Autre : <input type="checkbox"/> Contact labo <input type="checkbox"/> Euthanasie = # : <input type="checkbox"/> Résolution = # :
Réév. le :												
INITIALES												



PLAN D'INTERVENTIONS

Chercheur :	Responsable :	#Protocole :	#Pièce :
Projet :			

Critères	Signes cliniques	Pointages	Interventions
Activité/Posture	Dos légèrement voûté	1	<p>Pointage de 0 = Rien d'anormal n'est observé :</p> <ul style="list-style-type: none"> – Faire une évaluation par semaine – Aucune intervention particulière
	Activité réduite; Démarche modifiée : Dos voûté; Capable de se lever ou s'étirer	2	
	Baisse marquée de l'activité; Démarche sur la pointe des pieds; Dos voûté; boiterie – incoordination - tremblement; Parésie	3	
	Immobile <u>avant</u> manips; Très lent, bouge peu/pas après stimulus; Décubitus; incapable de se dresser; Paralysie; Incoordination ou tremblements marqués	4	
Pelage	Poils ébouriffés : faible à modérés	1	<p>Pointage de 1 :</p> <ul style="list-style-type: none"> – Vérifier les autres signes cliniques – Augmenter la fréquence des réévaluations – Informer le labo
	Horripilation très marquée	3	
	Lésion peau - écoulement yeux = traitables	2	
	Lésion peau - écoulement yeux sévères = non traitables	4	
Expressions faciales	Yeux mi-clos (25%) mais ouverts après stimulation; Yeux ouverts et oreilles vers arrière	1	<p>Pointage de 2 :</p> <ul style="list-style-type: none"> – Vérifier les autres signes cliniques – Vérifier l'environnement immédiat – Débuter les traitements (ex., croquettes humidifiées, DietGel, argile verte) si applicables selon les traitements préapprouvés – Augmenter la fréquence des réévaluations à une fois par jour selon les critères – Communiquer avec le labo – Communiquer avec le vétérinaire au besoin
	Yeux mi-clos (50% fermés) sans changement après stimulation	2	
	Yeux mi-clos à clos (75% fermés) + nez et joues gonflés + Oreilles vers extérieure ou en arrière	3	
Comportement	Signes d'agressivité; Vocalise lors de manipulation; Comportement éthologique ou de nidification un peu altéré	2	
	Stéréotypie (bouge sans arrêt, tournis, etc): Masse empêchant ses activités normales (se toiletter, se mouvoir, etc); Agressivité++; Vocalisation durant phase d'activité	3	

ANNEXE VI : Exemple de grille d'évaluation pour tumeur et de feuille de suivi



Grille d'évaluation : points d'intervention éthique pour modèle de tumeur chez la souris

Signe observé	Score	Intervention	Fréquence du suivi
Tumeur non observable	0	Observer l'état général de l'animal	Une fois semaine
Volume tumoral < 1 cm ³	1		
Volume tumoral = 1 cm ³	2	Observer l'état général de l'animal; Aucun traitement	Trois fois par semaine
Tumeur > 1 cm ³ < au volume tumoral maximal autorisé	3	Observer l'état général de l'animal; Aucun traitement	À tous les jours
Tumeur = ou > au volume tumoral maximal autorisé	4	Euthanasie	-
Rougeur au site de la tumeur	1	Taille des griffes	Trois fois par semaine
Excoriation (lésion abrasive superficielle) au site de la tumeur	2		
Ulcère < 15% du volume de la tumeur sans ou nécrose < 1/3 de la surface	3	Vérifier l'hydratation : traitements de support le cas échéant ; Traitements topiques en fonction de ceux préapprouvés	À tous les jours
Léger exsudat : clair ou sang ou mucoïde ou pus	3		
Ulcère > 15 % de la surface de volume avec ou sans nécrose	4	Euthanasie	-
Exsudat : clair ou mucoïde, ou pus ; sang excessif ou non-traitable	4		
Plan musculaire visible ou nécrose > 1/3 de la surface de l'ulcère	4		
Signes de douleur lors de la palpation du tissu ulcéré (vocalises, tressauts)	4		



ANNEXE VII : Guide d'évaluation de l'indice de masse corporelle (IMC) chez la souris

Exemples imagés	Description textuelle
	<p>IMC de 1 Animal émacié Atrophie musculaire sévère Structures squelettiques extrêmement proéminentes, Les vertèbres sont clairement saillantes</p>
	<p>IMC de 2 Animal en mauvais état de chair Évidence de segmentation entre les vertèbres Os du bassin (ex. crête iliaque) facilement palpables</p>
	<p>IMC de 3 Animal en bon état de chair Aucune proéminence des vertèbres ni des crêtes iliaques</p>
	<p>IMC de 4 Animal en très bon état de chair, semble légèrement enrobé Palpation possible des vertèbres et des crêtes iliaques seulement si une légère pression est exercée</p>
	<p>IMC de 5 Animal obèse Formes corporelles moelleuses et dodues Disparition des structures osseuses sous les couches de gras et de masse musculaire</p>



ANNEXE VIII : Guide d'évaluation de l'indice de masse corporelle (IMC) chez le rat

Exemples imagés	Description textuelle
	<p>IMC de 1 Animal émacié Peu ou pas de couverture de chair sur le bassin dorsal La segmentation de la colonne vertébrale est visible Les vertèbres sont clairement saillantes</p>
	<p>IMC de 2 Animal en mauvais état de chair Fine couverture de chair sur le bassin dorsal, peu de graisse sous-cutanée La segmentation de la colonne vertébrale est proéminente Os du bassin (ex. crête iliaque) facilement palpables</p>
	<p>IMC de 3 Animal en bon état de chair La segmentation de la colonne vertébrale est facilement palpable Présence modérée de gras sous-cutané Les os du bassin (ex. crête iliaque) sont palpables en appliquant une légère pression</p>
	<p>IMC de 4 Animal en très bon état de chair, semble légèrement enrobé La segmentation de la colonne vertébrale est palpable en appliquant une légère pression Couche épaisse de gras sous-cutané Les os du bassin (ex. crête iliaque) sont palpables seulement en appliquant une pression ferme et les vertèbres caudales ne sont pas palpables</p>
	<p>IMC de 5 Animal obèse Formes corporelles moelleuses et dodues Disparition des structures osseuses sous les couches de gras et de masse musculaire</p>

