PNF M-14 Euthanasie		
Révisée par : Marie-Ève Lebel, Julie Dubeau, Geneviève L. Roy et Fany DeWilde	**Date :** Mars 2025	**Version :** 5.0
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 techniques d'euthanasies utilisées 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 ACRHMR et des utilisateurs qui procèdent à l'euthanasie d'animaux. Le personnel ayant à euthanasier des animaux dans le cadre de projets de recherche approuvés par le CPA, 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

Différentes raisons peuvent mener à l'euthanasie d'un animal. Par exemple, cela peut être pour obtenir des tissus pour la recherche, prévenir toute douleur lorsqu'un point limite approuvé est atteint ou encore pour réformer les animaux qui ne sont plus nécessaires lorsqu'aucune autre utilisation ne peut leur être attribuée en accord avec le principe des 3Rs. Peu importe la raison de la mise à mort, cela doit être fait dans le respect et de façon à provoquer le moins de douleur et de détresse possible, tout en étant compatible avec les objectifs du protocole. L'euthanasie devrait provoquer une perte de conscience rapide, suivie d'un arrêt cardiaque et d'un arrêt respiratoire et ultimement d'une perte totale de la fonction cérébrale.

Les méthodes d'euthanasie acceptées, ainsi que celles nécessitant une justification scientifique pour être utilisées en fonction de l'espèce et l'âge sont répertoriées en annexe I. Éthiquement, l'euthanasie par surdose de barbituriques est considérée comme la méthode d'euthanasie à privilégier. Quelle que soit la méthode utilisée, la mort de l'animal à la suite de l'euthanasie doit faire l'objet d'une vérification avant l'élimination de la carcasse. La méthode d'euthanasie utilisée doit avoir été approuvée par le CPA et être

réalisée par une personne qualifiée. De plus, les animaux qui ne sont pas hébergés en groupe avec des congénères familiers ne devraient pas être mélangés avant d'être euthanasiés. Dans la mesure du possible, les euthanasies doivent se faire à l'extérieur de la pièce d'hébergement afin de limiter tout stress des animaux.

4. DÉFINITIONS

ACRHMR : Animalerie du Centre de Recherche de l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont

CPA : Comité de Protection des Animaux

PNF : Procédure Normalisée de Fonctionnement

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 : Méthodes d'euthanasie et de confirmation du décès

Annexe II : Méthodes de sédation avant l'euthanasie

6. MATÉRIEL / ÉQUIPEMENT

- Drogues contrôlées
- Appareil à anesthésie
- Aiguille
- Aiguille papillon
- Seringue
- Sac de contention
- Guillotine commerciale
- Peroxygard
- Équipement de protection individuelle
- Sac pour disposer des cadavres
- Chambre d'induction
- Isoflurane
- CO_2
- Instrument plat et long
- Gant de protection (pour décapitation)
- Saline
- Balance
- Ciseau chirurgical

7. ÉTAPES / PROCÉDURES

7.1. Surdose de barbiturique ou d'anesthésique injectable

Le pentobarbital sodique (Dorminal®, Euthanyl®) ainsi que les anesthésiques injectables sont des substances désignées. Veuillez vous référer à la PNF P-14 Gestion des substances contrôlées afin de connaître les procédures à respecter en lien avec l'acquisition, l'entreposage, l'utilisation et la destruction de ces substances.

Lorsque les solutions sont visqueuses, il est préférable de diluer la solution 1 :1 avec de la saline et d'utiliser une aiguille papillon. Lorsque l'animal ne peut être immobilisé de manière sécuritaire et adéquate, administrer un sédatif avant de procéder à l'injection (consulter l'annexe II).

- Peser l'animal et calculer la quantité de drogue à injecter.
- Procéder à la sédation et à la pose de l'aiguille papillon au besoin.
- Injecter 120 mg/kg de pentobarbital sodique ou 3 fois la dose d'anesthésique i.v (consulter les PNF M-07, M-16 et M-18). Dans le cas des rongeurs, si l'injection i.v. est trop difficile, il est possible d'effectuer l'injection i.p., mais dans le cas des barbituriques, un anesthésique local à action rapide tel que la lidocaïne (consulter la PNF M-06 analgésie) doit être administré au site d'injection et la solution doit être tamponnée et diluée avant injection.
- Replacer les animaux dans leur cage dans un endroit calme.
- Attendre que l'animal cesse d'avoir des mouvements respiratoires.
- Confirmer la mort des animaux par osculation pour les grands animaux ou en effectuant une méthode physique d'euthanasie (consulter l'annexe I) pour les rongeurs.
- Déposer les carcasses dans un sac de plastique, le refermer adéquatement et le mettre au congélateur.

7.2. Surdose d'anesthésiques à inhaler

- Faire un examen visuel de l'appareil d'anesthésie afin de vérifier que toutes les composantes sont présentes, bien raccordées et qu'il y a suffisamment d'isoflurane et d'oxygène.
- Au besoin administrer un sédatif (consulter l'annexe II).
- Déposer les animaux dans la chambre d'induction.
- Ouvrir le débitmètre d'oxygène et l'ajuster à 1 à 2 L/min pour une chambre d'induction de 4 litres.
- Ouvrir le vaporisateur d'isoflurane et l'ajuster à 5 %.

- Attendre que le gaz induise une apnée prolongée et un arrêt cardiaque. *La période précédant la mort peut être assez longue.
- Confirmer la mort à l'aide d'une méthode physique d'euthanasie (consulter l'annexe I)
- Déposer les carcasses dans un sac de plastique, le refermer adéquatement et le mettre au congélateur.

Nettoyer et vidanger la chambre d'induction entre les groupes d'animaux à l'aide de Peroxygard. NE PAS UTILISER D'ALCOOL.

7.3. Inhalation de CO_2 sous anesthésie

Les rongeurs néonataux étant résistants à l'hypoxie, cette méthode est réservée aux rongeurs de plus de 13 jours d'âge.

- Faire un examen visuel de l'appareil d'anesthésie afin de vérifier que toutes les composantes sont présentes, bien raccordés et qu'il y a suffisamment d'isoflurane et d'oxygène.
- Au besoin administrer un sédatif (consulter l'annexe II).
- Déposer les animaux dans la chambre d'induction
- Ouvrir le débitmètre d'oxygène et l'ajuster à 1 à 2 L/min pour une chambre d'induction de 4 litres
- Ouvrir le vaporisateur d'isoflurane et l'ajuster à 5 %.
- Lorsque l'animal a perdu conscience, fermer l'oxygène et le vaporisateur d'isoflurane puis brancher le tube de la bonbonne de CO_2.
- Ouvrir la bonbonne de CO_2 à un débit élevé afin d'induire rapidement la mort des animaux.
- Lorsque les animaux ont cessé de respirer, fermer la bonbonne de CO_2 et laisser les animaux en contact avec le CO_2 pendant 2 minutes.
- Confirmer la mort à l'aide d'une méthode physique d'euthanasie (consulter l'annexe I).
- Déposer les carcasses dans un sac de plastique, le refermer adéquatement et le mettre au congélateur.

7.4. Inhalation de CO_2 sans anesthésie

Les rongeurs néonataux étant résistants à l'hypoxie, cette méthode est réservée aux rongeurs de plus de 13 jours d'âge. Le dioxyde de carbone ne devrait pas être utilisé si d'autres méthodes peuvent être utilisées. Une justification scientifique qui confirme que les autres méthodes d'euthanasie plus éthiques interfèrent avec les résultats expérimentaux doit être soumise et approuvée par le CPA pour utiliser cette méthode.

- Déposer les animaux dans la chambre d'induction
- Ouvrir la bonbonne de CO_2 et ajuster le débit afin d'induire un remplissage graduel de la chambre d'euthanasie à un taux situé entre 30 et 40% du volume par minute. (Consulter le tableau 1 ci-dessous pour avoir les valeurs correspondantes en L/min en fonction de la taille de la chambre utilisée)
- Lorsque les animaux ont perdu connaissance, il est possible d'augmenter le débit du CO_2.
- Lorsque les animaux ont cessé de respirer, fermer la bonbonne de CO_2 et laisser les animaux en contact avec le CO_2 pendant 2 minutes.
- Confirmer la mort à l'aide d'une méthode physique d'euthanasie (consulter l'annexe I).
- Déposer les carcasses dans un sac de plastique, le refermer adéquatement et le mettre au congélateur.
- Vidanger la chambre d'induction et la nettoyer à l'aide de Peroxygard entre les groupes d'animaux. NE PAS UTILISER D'ALCOOL.

Tableau 1 : Débit de CO_2 à respecter pour l'euthanasie des rongeurs sans anesthésie

Contenant	Volume	Débit pour 35%
Cage Allentown ventilée de souris	7,5 L	2,6 L/min
Grande chambre d'induction	21 L	7.35 L/min
Petite chambre d'induction	4 L	1,4 L/min

7.5. Méthode physique (dislocation cervicale, exsanguination, décapitation etc) sous anesthésie

- Procéder à l'anesthésie des animaux selon les PNF M-07 ou M-16.

- Lorsque l'animal n'a plus de réflexe de retrait et a une respiration profonde et régulière, procéder à l'euthanasie des animaux.

7.5.1 Dislocation cervicale (rongeurs de moins de 200g) :

- Dans une main, saisir la base de la queue
- Mettre le pouce et l'index de l'autre main ou un instrument plat et long à la base du crâne.
- Tirer fermement d'un coup sec ou presser le pouce contre l'index afin de séparer les vertèbres cervicales.
- Palper les vertèbres cervicales pour confirmer que la dislocation est réussie et évaluer les critères de mortalité (pupille fixe, arrêt cardiaque, arrêt respiratoire) confirmant la mort de l'animal.
- Déposer les carcasses dans un sac de plastique, le refermer adéquatement et le mettre au congélateur.

7.5.2 Exsanguination

- Soustraire au moins 50% du volume total sanguin en circulation par ponction cardiaque, prélèvement au niveau de la veine cave ou de l'aorte abdominale ou perfusion.
- Confirmer la mort à l'aide d'une deuxième méthode physique d'euthanasie et évaluer les critères de mortalité (pupille fixe, arrêt cardiaque, arrêt respiratoire) confirmant la mort de l'animal.
- Déposer les carcasses dans un sac de plastique, le refermer adéquatement et le mettre au congélateur.

7.5.3 Décapitation (rongeurs) :

- Au besoin, placer l'animal dans un sac de contention DecapiCone®.
- Revêtir un gant de protection en cote de maille.
- Introduire la tête de l'animal entre les lames de la guillotine et appuyer fermement sans hésitation sur la poignée de la guillotine afin de couper la tête.
- Pour les fœtus ainsi que les nouveau-nés, couper la tête à l'aide de ciseaux chirurgicaux bien affilés.
- Nettoyer la guillotine ou les ciseaux à l'aide d'alcool entre les animaux.
- Déposer les carcasses dans un sac de plastique, le refermer adéquatement et le mettre au congélateur.

8. RÉFÉRENCES / PROCÉDURES CONNEXES

- PNF M-06 Analgésie
- PNF M-07 Anesthésie des rongeurs
- PNF M-16 Anesthésie du lapin
- PNF M-18 Anesthésie du porc
- PNF P-09 Prélèvements sanguins
- PNF P-14 Gestion des substances contrôlées
- Lignes directrices du CCPA sur : l'euthanasie des animaux utilisés en science (2010)
- Nouvelles recommandations du CCPA concernant l'euthanasie au dioxyde de carbone (2020)
- American Veterinary Medical Association (AVMA) (2020): Guidelines for the euthanasia of animals: 2020 Edition. Site: https://www.avma.org/sites/default/files/2020-02/Guidelines-on-Euthanasia-2020.pdf
- Humane Society International (2024). Euthanasia. Site: https://www.hsi.org/news-resources/euthanasia/
- Boivin et al. (2017). "Review of CO_2 as a Euthanasia Agent for Laboratory Rats and Mice". JAALAS. Vol.56 (5) Site: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5605172/
- VIN (2009). "Premedication and euthanasia methods for rabbits".
- Dr Geoffrey Truchetti. Communications personnelles, 16 septembre 2019 et 2 février 2020 et octobre 2024.

- Edson, Matthew (2016). Anesthesia and Surgery of Miniature Pigs. VIN Conference

9. HISTORIQUE DES MODIFICATIONS

Date	Modifications	Version
2012-03-21	Création par Patricia Liscourt et Stéphane Faubert	1.0
2016-07-25	Mise à jour par Marie-Chantal Giroux	2.0
2019-09-01	Modification par Geneviève L. Roy	3.0
2020-05-11	Ajustement de la procédure pour l'euthanasie au CO_2	4.0
2025-03-21	Refonte de la PNF et mise à jour	5.0

ANNEXE I : Méthodes d'euthanasie et de confirmation du décès

Tableau 1 : Méthodes d'euthanasie acceptées

Animaux	Méthodes
Souris et rats	• Surdose de barbiturique ou d'anesthésique injectable • Surdose d'anesthésiques à inhaler • Inhalation de CO_2 sous anesthésie (plus de 13 jours d'âge) • Méthode physique (dislocation cervicale, exsanguination, décapitation etc) sous anesthésie • *Pour les fœtus seulement décapitation sans anesthésie
Lapins	• Surdose de barbiturique ou d'anesthésique injectable • Exsanguination sous anesthésie
Porcs	• Surdose de barbiturique • Exsanguination sous anesthésie

Tableau 2 : Méthode d'euthanasie nécessitant une justification scientifique

Animaux	Méthodes
Souris et rats	• Décapitation ou dislocation cervicale sans anesthésie • Inhalation de CO_2 sans anesthésie

Tableau 3 : Méthodes de confirmation du décès

Animaux	Méthodes
Souris et rats	• Dislocation cervicale • Décapitation • Exsanguination • Pneumothorax
Lapins et porc	• Auscultation pour confirmer aucun bruit cardiorespiratoire

ANNEXE II : Méthodes de sédation avant l'euthanasie

Animaux	Méthodes
Souris et rats	• 4mg/kg de xylazine i.p.
Lapins	• 1mg/kg Midazolam, 15-20 mg/kg Kétamine et 0,02 mg/kg Dexmédétomidine i.m.
Porcs	• 20 mg/kg Kétamine, 2 mg/kg Xylazine, 0,2 mg/kg Acépromazine i.m.