



PLATEFORME DE BIOLOGIE IN VIVO

PROCÉDURE NORMALISÉE DE FONCTIONNEMENT (PNF)

TITRE :		NO PNF :	
EUTHANASIE DES RONGEURS		800-STA-15	
DATE D'ENTRÉE EN VIGUEUR :	RÉVISION :	DATE :	PAGE :
2004-10-01	6	2023-06-02	1 DE 20

APPROBATION

DIRECTRICE DES OPÉRATIONS :	SIGNATURE :	DATE :
Manon Valiquette		2023-06-02
CHEF DE SERVICES VÉTÉRINAIRES :	SIGNATURE :	DATE :
Julie Gervais		2023-06-02

--	--	--

PROCÉDURE NORMALISÉE DE FONCTIONNEMENT (PNF)		
TITRE : EUTHANASIE DES RONGEURS		NO PNF : 800-STA-15
DATE D'ENTRÉE EN VIGUEUR : 2004-10-01	RÉVISION : 6	DATE : 2023-06-02
		PAGE : 2 DE 20

TABLE DES MATIÈRES

1.0 INTRODUCTION

- 1.1 Objectif
- 1.2 Application
- 1.3 Responsabilités
- 1.4 Matériel et documentation

2.0 PROCÉDURES

- 2.1 Généralités
- 2.2 Le dioxyde de carbone (CO₂)
- 2.3 Méthodes physiques
- 2.4 Surdose de barbituriques (pentobarbital sodique)
- 2.5 Fœtus et nouveau-nés

3.0 DISPOSITION DES CADAVRES

4.0 DOCUMENTATION

5.0 RÉFÉRENCES

6.0 FORMULAIRES

7.0 ANNEXE

PROCÉDURE NORMALISÉE DE FONCTIONNEMENT (PNF)			
TITRE : EUTHANASIE DES RONGEURS		NO PNF : 800-STA-15	
DATE D'ENTRÉE EN VIGUEUR : 2004-10-01	RÉVISION : 6	DATE : 2023-06-02	PAGE : 3 DE 20

1.0 INTRODUCTION

1.1 Objectif

Décrire les procédures standards entourant les méthodes d'euthanasie de rongeurs autorisées à la Plateforme de biologie In Vivo.

1.2 Application

Cette PNF est une directive de l'administration de la Plateforme de biologie In Vivo et doit être appliquée par tous les employés et les usagers concernés.

Lorsqu'une personne fait face à une situation où cette PNF ne peut être appliquée, elle doit en aviser un des approbateurs de cette PNF.

Cette PNF respecte en tout temps les règles régies par les responsables de la santé et sécurité au travail (SST) de l'Université de Montréal.

1.3 Responsabilités

Les personnes responsables d'effectuer des euthanasies doivent avoir suivi la formation à cet effet.

Il est également de la responsabilité des usagers en charge des commandes d'animaux et/ou de la reproduction de colonies de s'assurer de réduire au strict minimum le nombre d'animaux commandés ou produits en trop. Une planification rigoureuse des designs expérimentaux et une gestion serrée des couples géniteurs aideront à réduire le nombre d'animaux ainsi euthanasiés.

De plus, chaque employé ou usager est responsable d'appliquer les procédures standards qui le concernent tel que décrit dans les PNF.

Lors de l'identification d'un animal en détresse, ou moribond, le chercheur responsable ou son délégué doivent être avisés afin d'approuver l'euthanasie. Advenant que le chercheur ou son délégué ne puisse être rejoint rapidement, le vétérinaire a l'autorité d'approuver une euthanasie selon son jugement clinique. Voir PNF 800-STA-10 Animal en détresse, moribond ou mort.

1.4 Matériel et documentation

1.4.1 Appareils/Instruments/Équipements

- Pentobarbital sodique (Somnotol® 65 mg/ml ou Euthanyl®240 mg/ml)
- Isoflurane
- Chambre d'induction d'anesthésie
- Appareil à anesthésie à l'isoflurane
- Seringues de grosseur appropriée
- Aiguilles de grosseur appropriée
- CO₂
- Chambre d'euthanasie (CO₂)

PROCÉDURE NORMALISÉE DE FONCTIONNEMENT (PNF)			
TITRE : EUTHANASIE DES RONGEURS		NO PNF : 800-STA-15	
DATE D'ENTRÉE EN VIGUEUR : 2004-10-01	RÉVISION : 6	DATE : 2023-06-02	PAGE : 4 DE 20

- Débitmètre
- Couvercle pour euthanasie
- SmartBox Auto-CO₂ System; M1R-SBVF Four-Tier Rack (Euthanex)
- Ciseaux bien affûtés

1.4.2 Documents

- Manuel d'instructions SmartBox Auto-CO₂ System, Euthanex

1.4.3 Formulaires spécifiques à cette PNF

- Registre des euthanasies (Annexes 4, 5, 6 et 7)

1.4.4 PNF reliées

800-STA-21; Commande, utilisation et entreposage des drogues contrôlées et des narcotiques.

800-GES-10; Programme de formation des employées et des utilisateurs de l'animalerie

800-OPE-02; Transport d'animaux

800-STA-06; Prélèvements sanguins

800-STA-16; Administration de substances aux animaux

2.0 PROCÉDURES

2.1 Généralités

Les animaux utilisés en recherche à la Plateforme de Biologie In Vivo doivent être manipulés de façon éthique à chaque étape de leur séjour. Les dernières minutes de vie, tout comme les procédures expérimentales, doivent se dérouler respectueusement et éthiquement afin de réduire au minimum la douleur et la détresse.

Les raisons d'euthanasie sont diverses : maladie, génotype, âge ou comportement inadéquat pour les besoins expérimentaux, fin de vie utile, atteinte d'un point limite d'intervention éthique ou d'un point limite scientifique. Toutefois, avant de procéder à toute euthanasie, l'usager devrait automatiquement s'interroger sur les autres utilités envisageables pour l'animal : collecte de tissus, pratique d'une technique, don à un autre chercheur.

La méthode d'euthanasie choisie en fonction des objectifs scientifiques d'un protocole expérimental doit être approuvée par le CDEA. Certaines méthodes d'euthanasie peuvent engendrer davantage de douleur et de détresse et doivent donc être justifiées scientifiquement auprès du CDEA.

Toute euthanasie doit être effectuée par un membre du personnel ou un usager ayant reçu la formation nécessaire (voir PNF 800-GES-10), et en utilisant le matériel approprié. Chaque euthanasie doit également être inscrite et détaillée au registre des euthanasies du secteur SPF

PROCÉDURE NORMALISÉE DE FONCTIONNEMENT (PNF)			
TITRE : EUTHANASIE DES RONGEURS		NO PNF : 800-STA-15	
DATE D'ENTRÉE EN VIGUEUR : 2004-10-01	RÉVISION : 6	DATE : 2023-06-02	PAGE : 5 DE 20

(Annexes 4 et 5), du secteur conventionnel (Annexe 6) ou du secteur quarantaine (Annexe 7). L'euthanasie et sa raison devront aussi être documentés dans l'outil de gestion informatisé en utilisation à la plateforme de biologie in vivo.

Afin de minimiser le stress, il est préférable d'euthanasier un animal dans sa propre cage d'hébergement. Pour les mêmes raisons, il faut éviter de combiner des animaux qui ne se connaissent pas dans une même cage ou une même chambre d'euthanasie et ce même quelques secondes avant de procéder à l'euthanasie.

Un animal vivant et non anesthésié ne doit pas être témoin d'une euthanasie en cours.

2.2 Le dioxyde de carbone (CO₂)

2.2.1 Information générale, euthanasie au CO₂

Les lignes directrices du CCPA sur l'euthanasie des animaux utilisés en science (2010) et les nouvelles recommandation du CCPA concernant l'euthanasie au dioxyde de carbone (2020) indiquent que l'euthanasie de rongeurs par inhalation de CO₂ est une méthode d'euthanasie acceptable sous condition. Ceci signifie, comme inscrit au principe directeur 12 de ces lignes directrices, que : *le dioxyde de carbone ne devrait pas être utilisé si d'autres méthodes s'avèrent pratiques pour l'expérience et pour l'espèce*. La justification étant que l'inhalation de gaz carbonique pourrait engendrer de la douleur lors de sa précipitation en acide carbonique, et causerait de la détresse.

Le comité institutionnel d'intégration de la protection des animaux (CIIPA) recommande que l'euthanasie par inhalation de CO₂ soit permise à l'Université de Montréal, mais que les procédures soient adaptées afin de minimiser les risques de douleur et de détresse pour les animaux et de respecter les recommandations du CCPA. Les chercheurs doivent cependant justifier la raison pour laquelle ils utilisent le CO₂ dans le formulaire CDEA d'utilisation des animaux. La méthode proposée doit avoir été examinée par le comité de protection des animaux et le personnel réalisant la procédure doit avoir été formés à son utilisation. **Ainsi, les procédures d'euthanasie au CO₂ autorisées à Plateforme de Biologie In Vivo par méthode conventionnelle ou automatique ont été élaborées de manière à ce qu'un taux de remplissage graduel initial de 30 – 40% de CO₂ du volume de la chambre par minute induise d'abord une anesthésie avant d'être augmenté à des niveaux induisant une euthanasie.**

Les animaux doivent être amenés à même leur cage d'hébergement respective dans la pièce dédiée à l'euthanasie au CO₂ (SPF : salles S2-302-3 ou S2-302-5 ou S2-141-3; conventionnel : S2-304-7 ou 304-9, quarantaine : S2-324-16). Si seulement un animal dans la cage doit être euthanasié, transférer cet animal dans une cage terminale pour le transport vers la pièce d'euthanasie au CO₂. Ne pas combiner d'animaux provenant de différentes cages. Utiliser un chariot pour le transport de plus d'une cage d'hébergement (voir PNF 800-OPE-02).

Le chariot permettant de transporter les cages d'animaux à euthanasier doit demeurer à l'extérieur de la salle d'euthanasie au CO₂, afin d'éviter que les animaux en attente ne soient témoins de l'euthanasie d'autres animaux.

PROCÉDURE NORMALISÉE DE FONCTIONNEMENT (PNF)			
TITRE : EUTHANASIE DES RONGEURS		NO PNF : 800-STA-15	
DATE D'ENTRÉE EN VIGUEUR : 2004-10-01	RÉVISION : 6	DATE : 2023-06-02	PAGE : 6 DE 20

2.2.2 Méthode conventionnelle

Cette méthode d'euthanasie est recommandée pour une euthanasie devant être induite rapidement (ex. animal souffrant) ou pour un petit nombre d'animaux. Elle est effectuée à même la cage d'hébergement de l'animal ou dans une chambre d'euthanasie (Annexe 2. Procédures d'utilisation : cage d'hébergement ou chambre d'euthanasie).


- Remplacer le couvercle de la cage d'hébergement par un couvercle d'euthanasie ou transférer les animaux d'une même cage dans la chambre d'euthanasie (14 x 12 x 11 cm).
- Remplir la chambre ou la cage de CO₂ en utilisant un taux de remplissage anesthésiant de 30 à 40% du volume de la chambre ou de la cage par minute. Dès que les animaux ont perdu conscience, le taux de remplissage doit être augmenté à son maximum et maintenu pendant un minimum d'une minute. La perte de conscience est considérée atteinte lorsque tous les animaux sont en décubitus (allongé à l'horizontal) et qu'aucun mouvement des membres et du cou ne sont perceptibles.
- Lorsque les mouvements respiratoires de tous les animaux ont cessé, une méthode d'euthanasie secondaire doit être pratiquée afin de s'assurer de l'irréversibilité de l'euthanasie par inhalation de CO₂ (voir section 2.3 : Méthodes d'euthanasie physiques).
- Si les animaux ont été placés dans la chambre d'euthanasie, il est nécessaire de purger le CO₂ avant d'y placer les prochains animaux à euthanasier.
- La chambre doit être nettoyée à l'aide des lingettes désinfectantes **entre chaque euthanasie**, afin d'éliminer tout signaux d'alarme olfactifs perceptibles par les rongeurs.

2.2.3 Méthode automatique

L'utilisation de l'appareil à euthanasie SmartBox (Euthanex) est généralement recommandée lorsqu'un plus grand nombre d'animaux sont à euthanasier (environ 5 cages et plus). Il s'avère plus rapide et plus économique. Comme il est situé dans le secteur SPF, il sert à l'euthanasie de souris seulement étant donné que l'animalerie n'héberge pas de rats transgéniques pour le moment. Les taux de remplissage de CO₂ et les durées de chaque étape de l'euthanasie par espèce sont pré-programmés par le Chef de service vétérinaire de la Plateforme de Biologie In Vivo (administrateur du système Euthanex), et respectent les lignes directrices du CCPA. Les connexions et débits pour l'entrée et l'évacuation du CO₂ sont installés et ajustés en permanence et ne requièrent aucune intervention de la part de l'utilisateur. Cet appareil est donc sécuritaire et simple d'utilisation :

- Mettre les cages avec animaux sans couvercle dans la ou les chambres de l'appareil en commençant par la chambre A (en haut), puis B, C et D, au besoin, selon le nombre de cages.
- Fermer la porte de chaque chambre en tournant les 3 loquets vers la droite.

PROCÉDURE NORMALISÉE DE FONCTIONNEMENT (PNF)			
TITRE : EUTHANASIE DES RONGEURS		NO PNF : 800-STA-15	
DATE D'ENTRÉE EN VIGUEUR : 2004-10-01	RÉVISION : 6	DATE : 2023-06-02	PAGE : 7 DE 20

- Peser **F6** ('Start screen').
- Entrer votre mot de passe de 7 chiffres. Peser 'enter' 
- Sélectionner F2, F3, F5 ou F6 selon la ou les chambres à utiliser:

F2 pour chambre A ('Single')

F3 pour chambres A et B ('Double')

F5 pour chambres A, B, C ('Triple')

F6 pour chambres A, B, C, D ('All')

- Sélectionner **F2** pour souris ('Mouse'). A cette étape, seule cette fonction peut être choisie car la souris est la seule espèce acceptée dans le secteur SPF. Il n'est pas recommandé d'euthanasier les nouveau-nés avec cette méthode (voir section 2.5).
- Sélectionner **F2** ('Start Gas Cycle') afin de débiter l'entrée du CO₂. Le programme démarrera seulement si chaque porte de chambre programmée est bien fermée.
- Lorsque la fonction **F6** est disponible, c'est qu'il est encore possible d'arrêter le système au début du cycle. Toutefois, un arrêt en cours d'euthanasie ne doit être effectué qu'en cas d'urgence. Un arrêt du système en cours d'euthanasie pourrait causer une grande détresse aux animaux qui risqueraient de se réveiller. L'utilisateur doit rester dans la salle durant toute la durée de la procédure.
- Le processus entier d'euthanasie dure environ 18 ½ minutes et comprend les différentes phases suivantes, affichées à l'écran :
 - Cycle 1 : anesthésie (5 min)
 - Cycle 2 : euthanasie (5 min)
 - Dwell : maintien (5 min)
 - Purge : évacuation (3 ½ min)
- Une fois le programme complété, les portes des chambres peuvent être ouvertes et les cages retirées.
- Peser **F3** pour démarrer un nouveau cycle ou **F6** pour sortir du programme.
- Noter que l'appareil demeure allumé (à 'ON') en tout temps.

PROCÉDURE NORMALISÉE DE FONCTIONNEMENT (PNF)			
TITRE : EUTHANASIE DES RONGEURS		NO PNF : 800-STA-15	
DATE D'ENTRÉE EN VIGUEUR : 2004-10-01	RÉVISION : 6	DATE : 2023-06-02	PAGE : 8 DE 20

2.3 Méthodes physiques

Le CCPA et le CDEA exigent que la technique d'euthanasie physique soit effectuée par un membre du personnel dûment formé et ayant la capacité d'effectuer la procédure sans induire d'effets physiologiques et psychologiques chez l'animal et le manipulateur. Il est également exigé que ces méthodes d'euthanasie soient précédées d'une anesthésie.

La dislocation cervicale et la décapitation avec guillotine sans anesthésie préalables (dans le but de rendre l'animal inconscient) sont des méthodes d'euthanasie qui ne sont acceptables que sous condition, ce qui signifie que leur utilisation doit être justifiée scientifiquement et approuvée par le CDEA.

2.3.1 Dislocation cervicale (rongeurs ≤ 200 grammes)

- Anesthésier l'animal avec l'isoflurane jusqu'à la sédation;
- Vérifier la profondeur de l'anesthésie par l'absence de réflexe palpébral (au niveau de la paupière) et de retrait lors du pincement de l'espace interdigital avec une pince dentelée;
- Retirer rapidement l'animal de la chambre d'induction et le déposer sur une surface plane;
- Placer l'instrument de dislocation ou le pouce et l'index à la base du crâne et le tenir fermement en place;
- Effectuer une pression sur l'instrument ou les doigts en tirant simultanément sur la base de la queue;
- S'assurer de la séparation du crâne et de la moelle épinière (espace vide entre la base du crâne et la colonne vertébrale) en palpant les vertèbres;
- Confirmer l'arrêt de la respiration en observant le thorax;
- En cas d'absence de séparation cervicale, ou de persistance de la respiration, procéder immédiatement à une seconde méthode d'euthanasie (décapitation, injection de barbituriques, inhalation de CO₂, ou création d'un pneumothorax). Si l'animal n'est pas anesthésié, seule l'injection de barbituriques ou inhalation de CO₂ peuvent être utilisées.
- Cette procédure est impossible chez des rongeurs de plus de 200g, les structures anatomiques, masse musculaire, ligaments et tendons offrant trop de résistance.

PROCÉDURE NORMALISÉE DE FONCTIONNEMENT (PNF)			
TITRE : EUTHANASIE DES RONGEURS		NO PNF : 800-STA-15	
DATE D'ENTRÉE EN VIGUEUR : 2004-10-01	RÉVISION : 6	DATE : 2023-06-02	PAGE : 9 DE 20

2.3.2 Décapitation avec guillotine (souris, rats, hamsters)

- Les animaux en attente d'euthanasie ne doivent pas être témoins de la décapitation de leurs congénères de façon visuelle ou olfactive.
- Anesthésier l'animal avec l'isoflurane jusqu'à la sédation.
- Vérifier la profondeur de l'anesthésie par l'absence de réflexe palpébral (au niveau de la paupière) et de retrait lors du pincement de l'espace interdigital avec une pince dentelée.
- Placer la tête de l'animal dans le carcan de la guillotine et actionner l'instrument.
- Il est primordial que la guillotine, ainsi que tout équipement accessoire et surfaces de travail soient nettoyées de tout déchets organiques (sang, urine et fèces) avant qu'un autre animal soit admis dans la pièce.
- La lame doit être affûtée en tout temps.
- Pour les animaux identifiés à l'oreille, des précautions doivent être prises pour ne pas mélanger les animaux après la décapitation.

2.3.3 Pneumothorax

- Cette méthode est habituellement utilisée suite à une anesthésie sans réveil. Autrement, anesthésier l'animal avec l'isoflurane jusqu'à la sédation profonde.
- Vérifier la profondeur de l'anesthésie par l'absence de réflexe palpébral (au niveau de la paupière) et de retrait lors du pincement de l'espace interdigital avec une pince dentelée.
- Si vous procédez à une collecte d'organes situés au niveau du thorax, l'ouverture du thorax nécessaire à cette procédure est suffisante pour prévenir le réveil de l'animal.
- Suite à l'ouverture de l'abdomen, localisez le diaphragme, et avec un ciseau bien affûté, ou une lame de bistouri, incisez-le transversalement. L'animal ne pourra plus respirer.
- Vérifiez les signes vitaux de l'animal avant de disposer de la carcasse.

PROCÉDURE NORMALISÉE DE FONCTIONNEMENT (PNF)			
TITRE : EUTHANASIE DES RONGEURS		NO PNF : 800-STA-15	
DATE D'ENTRÉE EN VIGUEUR : 2004-10-01	RÉVISION : 6	DATE : 2023-06-02	PAGE : 10 DE 20

2.3.4 Exsanguination

- Cette méthode est habituellement utilisée suite à une anesthésie sans réveil. Autrement, anesthésier l'animal avec l'isoflurane jusqu'à la sédation profonde.
- Vérifier la profondeur de l'anesthésie par l'absence de réflexe palpébral (au niveau de la paupière) et de retrait lors du pincement de l'espace interdigital avec une pince dentelée.
- Si vous procédez à une collecte d'organes majeurs comme le foie ou à la récolte d'un volume sanguin équivalent au moins 50 % du volume sanguin total de l'animal (ex. 0,75 ml pour une souris de 25g, 7,5 ml pour un rongeur de 250g, via l'aorte abdominale ou une ponction intracardiaque, cette procédure est suffisante pour prévenir le réveil de l'animal. Utiliser la formule suivante afin de calculer le volume sanguin total de l'animal :

$$\text{Volume sanguin (ml)} = \text{poids de l'animal (g)} \times 0.06$$

- S'assurer de la mort de l'animal avant d'en disposer en vérifiant l'absence de battements cardiaques (palpation du thorax avec les doigts) et de mouvements respiratoires (visualisation).
- Si le volume prélevé est inférieur à 50 % du volume sanguin, ou que l'animal présente toujours des signes vitaux, procéder immédiatement à une autre méthode d'euthanasie.

2.3.4.1 Section de l'aorte abdominale

- Procédez à l'ouverture de l'abdomen, localisez l'aorte abdominale, et avec un ciseau bien affuté, ou une lame de bistouri, incisez-la transversalement. Visualisez l'important flot de sang remplir la cavité abdominale.

2.3.4.2 Ponction cardiaque

- Insérer une aiguille (souris : 25G 5/8 po; rat : 22G 1 po), dans l'angle gauche formé par le sternum et la dernière côte. Pénétrer avec un angle de 45°.
- Pour les souris : avec une seringue de 1 à 3 ml, retirer jusqu'à 1 ml de sang.
- Pour les rats : avec une seringue de 20 ml, retirer jusqu'à 10 ou 15 ml de sang selon le poids de l'animal.
- Pour d'autres rongeurs, procédez à l'ouverture de l'abdomen et à un pneumothorax, puis à une ponction cardiaque directe à l'aide d'une aiguille 1 ½ po 21-23G. De façon alternative, placez l'animal anesthésié

PROCÉDURE NORMALISÉE DE FONCTIONNEMENT (PNF)			
TITRE : EUTHANASIE DES RONGEURS		NO PNF : 800-STA-15	
DATE D'ENTRÉE EN VIGUEUR : 2004-10-01	RÉVISION : 6	DATE : 2023-06-02	PAGE : 11 DE 20

en décubitus dorsal, et insérer parallèlement au sternum une aiguille Vacutainer 20-22G dans l'angle gauche formé par le sternum et la dernière côte.

2.3.4.3 Ponction de l'aorte abdominale

- Ouvrir l'abdomen de l'appendice xiphoïde au pubis.
- Déplacer la masse intestinale vers l'avant ou le côté de façon à dégager l'aorte abdominale.
- Pour les souris, insérer une aiguille 23G dans l'aorte abdominale et avec une seringue de 1 à 3 ml, retirer environ 1 ml de sang.
- Pour les rats, insérer une aiguille 21 G dans l'aorte abdominale et avec une seringue de 20 ml, retirer jusqu'à 10 ou 15 ml de sang selon le poids de l'animal.

2.4 Surdose de barbituriques (pentobarbital sodique)

- Administrer environ 400 mg/kg de pentobarbital sodique (Somnotol® ou Euthanyl®) par voie intrapéritonéale. Voir les 2 premiers tableaux de l'annexe 1.
- S'assurer de la mort de l'animal avant d'en disposer en vérifiant l'absence de battements cardiaques (palpation du thorax avec les doigts), et de mouvements respiratoires (visualisation).
- Compléter le formulaire d'utilisation des drogues contrôlées, 800-STA-21 FOR-2.

2.5 Fœtus et nouveau-nés

2.5.1 Fœtus de 0 à 14 jours de gestation

Comme le développement neuronal est minimal à ce stade, l'euthanasie de la mère est suffisante.

2.5.2 Fœtus de 15 jours de gestation jusqu'à la naissance :

- Le développement des voies nerveuses de la douleur est plus avancé.
- Lors de l'euthanasie d'une femelle gestante ou en dystocie, alors que les fœtus ne seront pas utilisés, on doit préserver l'environnement utérin en exposant les fœtus à une anoxie. L'euthanasie de la mère au CO₂ suivie d'une dislocation cervicale est alors indiquée.
- Lorsque des fœtus de 15 jours ou plus de gestation doivent être retirés de l'utérus puis euthanasiés :
 - Euthanasie de la mère, retrait immédiat des fœtus, et décapitation rapide des fœtus avec petits ciseaux chirurgicaux bien affûtés ou surdose

PROCÉDURE NORMALISÉE DE FONCTIONNEMENT (PNF)			
TITRE : EUTHANASIE DES RONGEURS		NO PNF : 800-STA-15	
DATE D'ENTRÉE EN VIGUEUR : 2004-10-01	RÉVISION : 6	DATE : 2023-06-02	PAGE : 12 DE 20

d'anesthésique injectable par voie intra péritonéale (pentobarbital sodique ou kétamine).

- Lorsque la décapitation n'est pas compatible avec le projet, une surdose d'anesthésique injectable par voie intrapéritonéale (pentobarbital sodique ou kétamine) doit être effectuée et doit précéder toute perfusion ou immersion dans l'azote liquide, ou un fixatif.

2.5.3 Nouveau-nés jusqu'au sevrage (~21 jours d'âge)

- Il est préférable d'utiliser une surdose d'anesthésique injectable par voie intrapéritonéale (pentobarbital sodique ou kétamine).
- L'anesthésie des animaux à l'isoflurane pour induire une sédation profonde suivie d'une méthode physique (dislocation cervicale, pneumothorax, décapitation, exsanguination, etc.) peut aussi être utilisée si compatible avec les besoins expérimentaux. Il faut vérifier l'absence de réflexes de retrait avant de procéder à la méthode secondaire d'euthanasie physique.
- Il n'est pas recommandé d'utiliser le CO₂ pour l'euthanasie de nouveau-nés. Les nouveau-nés sont résistants à l'hypoxie et à l'hypercapnie. Lors d'euthanasie au CO₂, une exposition beaucoup plus longue est nécessaire. Il est inutile d'augmenter le % de remplissage, ce qui est même contre-indiqué puisqu'une telle pratique augmente la douleur et la détresse des animaux.
- Considérant le temps prolongé d'exposition, une méthode secondaire d'euthanasie physique est indiquée afin de confirmer la mort (dislocation cervicale, décapitation ou pneumothorax). Il faut vérifier l'absence de réflexes de retrait avant de procéder à la méthode secondaire d'euthanasie physique.

3.0 DISPOSITION DES CADAVRES

Une fois la mort confirmée, les cadavres sont placés aux congélateurs, disponibles dans le corridor technique de chaque secteur, dans un sac de plastique noir avant d'être récupérés et incinérés en tant que déchets biologiques par une compagnie privée.

4.0 DOCUMENTATION

Les euthanasies de toutes espèces sont documentées dans les registres papier pour les euthanasies en secteur SPF, conventionnel et quarantaine (Annexes 4, 5, 6 et 7) et doivent également être documentées dans l'outil de gestion informatisé utilisé à la PBIV.

5.0 RÉFÉRENCES

Nouvelles recommandations du CCPA concernant l'euthanasie au dioxyde de carbone, juillet 2020

PROCÉDURE NORMALISÉE DE FONCTIONNEMENT (PNF)		
TITRE : EUTHANASIE DES RONGEURS		NO PNF : 800-STA-15
DATE D'ENTRÉE EN VIGUEUR : 2004-10-01	RÉVISION : 6	DATE : 2023-06-02
		PAGE : 13 DE 20

Lignes directrices du CCPA sur l'euthanasie des animaux utilisés en science, 2010

Recommandations vétérinaires au sujet de l'utilisation de dioxyde de carbone (CO₂) comme agent acceptable pour l'euthanasie des rongeurs hébergés à l'Université de Montréal, CIIPA, mai 2012

6.0 ANNEXES

PROCÉDURE NORMALISÉE DE FONCTIONNEMENT (PNF)			
TITRE : EUTHANASIE DES RONGEURS			NO PNF : 800-STA-15
DATE D'ENTRÉE EN VIGUEUR : 2004-10-01	RÉVISION : 6	DATE : 2023-06-02	PAGE : 14 DE 20

Annexe 1. Volume (ml) de Pentobarbital sodium à administrer selon l'espèce et le poids de l'animal, et la concentration du produit utilisé

Somnotol <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> ®, Pentobarbital sodium (65 mg/ml), environ 400 mg/kg, IP							
Souris	Fœtus* ≤15 g ou jusqu'au sevrage	16 à 30 g	≥ 31 g				
	0,1	0,2	0,3				
Rat, Cobaye, Hamster	Fœtus * ≤ 30 g	31 à 50 g	51 à 75 g	76 à 150 g	151 à 250 g	251 à 325 g	326 à 400 g
	0,2	0,3	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5
	401 à 500 g	501 à 650 g	650 à 825 g	826 g à 1 kg			
	3,0	4,0	5,0	6,0			

Pentobarbital sodium (120 mg/ml), environ 400 mg/kg, IP**							
Souris	de fœtus* à 30 g	>31 g					
	0,1	0,2					
Rat, Cobaye, Hamster	de fœtus* à 30 g	31 à 60 g	61 à 90 g	91 à 125 g	126 à 200 g	201 à 250 g	251 à 300 g
	0,1	0,2	0,3	0,4	0,7	0,8	1,0
	301 à 350 g	351 à 400 g	401 à 450 g	451 g à 500 g			
	1,2	1,3	1,5	1,7			

* de 15 jours de gestation jusqu'à la naissance

** Le pentobarbital sodium à une concentration de 120 mg/ml est obtenu par la dilution 1:1 d'Euthanyl ® (Pentobarbital sodium 240 mg/ml) dans de la saline stérile. La dilution doit être préparée de façon stérile.

Exemple : retirer 5 ml d'un flacon de 10 ml de saline stérile et le remplacer par 5 ml de Pentobarbital sodium 240 mg/ml

Inscrire Pentobarbital sodium 120 mg/ml sur le flacon, ainsi que la date d'expiration correspondant à 7 jours de plus que la date de dilution.

PROCÉDURE NORMALISÉE DE FONCTIONNEMENT (PNF)			
TITRE : EUTHANASIE DES RONGEURS		NO PNF : 800-STA-15	
DATE D'ENTRÉE EN VIGUEUR : 2004-10-01	RÉVISION : 6	DATE : 2023-06-02	PAGE : 15 DE 20

Annexe 2. Procédures d'utilisation - Cage d'hébergement ou boîte d'euthanasie

PROCÉDURE D'UTILISATION

CAGE D'HÉBERGEMENT PLACÉE DANS UNE CAGE DE RAT AVEC COUVERCLE D'EUTHANASIE

OU BOITE D'INDUCTION INDIVIDUELLE

1. Les animaux devant être euthanasiés ne doivent pas être transportés ni euthanasiés dans des cages contenant des animaux provenant d'autres cages.
2. Les animaux en attente d'être euthanasiés ne doivent pas être témoins d'euthanasies;
3. Vérifier que les tubulures et connections pour l'entrée et l'évacuation du CO₂ sont intactes;
4. Selon le contenant que vous utilisez pour procéder à l'euthanasie, suivre les instructions suivantes :


CONTENANT	PROCÉDURE	DÉBIT CO ₂
Cage d'hébergement	Placer la cage d'hébergement sans couvercle au centre de la cage de rat et refermer à l'aide du couvercle d'euthanasie (voir photo)	2 L/min
Boîte d'induction (14 x 12 x 11 cm)	Placer une souris à la fois dans la boîte d'euthanasie	0.75 L/min

5. Lorsque les animaux sont inconscients (allongés à l'horizontal) après 1 à 2 min, mettre le débitmètre de CO₂ à **12 L/min**;
6. Une fois vous être assuré que les animaux ne respirent plus, **fermer le débitmètre de CO₂, attendre 3 minutes**, puis retirer les animaux;
7. Procéder à une méthode mécanique (pneumothorax, dislocation, etc.) afin d'assurer la mort de chaque animal avant d'en disposer;
8. Rester toujours présent dans la salle lorsque le CO₂ est en fonction;
9. Avant de quitter, s'assurer que le CO₂ est bien fermé et le matériel bien nettoyé.

PROCÉDURE NORMALISÉE DE FONCTIONNEMENT (PNF)			
TITRE : EUTHANASIE DES RONGEURS		NO PNF : 800-STA-15	
DATE D'ENTRÉE EN VIGUEUR : 2004-10-01	RÉVISION : 6	DATE : 2023-06-02	PAGE : 16 DE 20

Annexe 3. Procédure d'utilisation – SmartBox/Euthanex

PROCÉDURE D'UTILISATION SmartBox/Euthanex

- Placer les cages **sans couvercles** dans la ou les chambres de l'appareil en commençant par la chambre A (en haut), puis B, C et D, au besoin, selon le nombre de cages (max 16 cages/chambre).
- Fermer bien la porte de chaque chambre utilisée** en tournant les 3 loquets vers la droite.
- Sélectionner **F6**** ('Start screen').
- Pour revenir à l'écran précédent, sélectionner Back en tout temps.
- Entrer votre mot de passe de 7 chiffres et sélectionner 'enter'** 
- Sélectionner F2, F3, F5 ou F6** selon la ou les chambres à utiliser:
 - F2** : chambre A ('Single')
 - F3** : chambres A et B ('Double')
 - F5** : chambres A, B, C ('Triple')
 - F6** : chambres A, B, C, D ('All')
- Sélectionner **F2**** ('Mouse') pour souris.
- Sélectionner **F6**** ('Continue') pour continuer.
- Sélectionner **F2**** ('Start Gas Cycle') **pour débiter l'entrée de CO₂**. Le programme démarrera seulement si chaque porte de chambre programmée est bien fermée. Processus complet d'euthanasie: 18 ½ min. Phase 1) anesthésie; 2) euthanasie; 3) maintien ('Dwell'); 4) évacuation.
- Pour un arrêt d'urgence au début du cycle**, le système peut être arrêté en sélectionnant **F6**.
- Une fois le programme complété, ouvrir la ou les portes et retirer les cages. Notez qu'une porte ne peut être ouverte lorsqu'un cycle est en marche.
- Peser **F6** **pour sortir** du programme ou **F3** pour en démarrer un nouveau.
- Bien nettoyer l'intérieur des chambres** avec les lingettes fournies avant de quitter. **Ne pas nettoyer la vitre.**

