

## XXI. LES RATS D'EXPÉRIMENTATION

### A. INTRODUCTION

#### 1. Origine et développement

Le rat brun sauvage (*Rattus norvegicus*) aurait établi son habitat original dans les zones tempérées de ce qui est maintenant la Russie, de la mer Caspienne jusqu'au nord de la Chine. A partir de cet habitat, ce rat s'est répandu à travers l'Ancien Monde au cours du 18<sup>e</sup> siècle suivant en même temps que les déplacements de la civilisation moderne et, jusque dans une large mesure, refoulant le rat noir sauvage (*Rattus rattus*) plus petit et moins agressif. Le rat norvégien n'a pas atteint l'Amérique du Nord avant 1775 et il y a encore des régions géographiques, comme la Province de l'Alberta, qui prétendent être encore exemptes de la présence du rat. Il n'existe aucune raison évidente pour que les membres de cette espèce soient appelés rats de Norvège ou norvégiens autre que «norvegicus», son nom latin (1, 2).

L'élevage en captivité du rat de Norvège a probablement commencé au début du 19<sup>e</sup> siècle pour la fantaisie et pour fournir des rats dans le cadre du sport ayant le rat comme appât (chasse compétitive des rats par les terriers), sport qui, heureusement, a été interdit depuis fort longtemps. Les expériences sur la reproduction du rat d'expérimentation ont été rapportées en Allemagne autour des années 1880. Les rats d'expérimentation élevés en captivité ont été introduits aux États-Unis pour la première fois dans un laboratoire de Chicago où ils ont été utilisés dans des études neurologiques. En 1906, quelques animaux de cette colonie ont été transférés au Wistar Institute de Philadelphie et ce sont ces rats qui sont à l'origine de la souche de rats Wistar qui est omniprésente de nos jours (3).

Le rat d'expérimentation tel qu'on le connaît aujourd'hui est le résultat d'une initiative essentiellement d'origine américaine et la grande majorité des souches qui sont utilisées présentement dans le monde scientifique ont pris naissance aux États-Unis. L'historique de ces développements a été récemment révisé (4).

On retrouve occasionnellement le rat noir dans les colonies d'expérimentation même s'il n'est utilisé que rarement en recherche biomédicale ou comportementale. Le rat de coton et le rat kangourou sont tous les deux indigènes de l'Amérique du Nord et ils appartiennent à la famille des Cricetidés, famille différente de celle à laquelle appartiennent les rats noir et norvégien qui sont des rongeurs appartenant à la famille des Muridés.

#### 2. Utilité en recherche

Après la souris d'expérimentation, le rat est le mammifère d'expérimentation le plus utilisé comptant pour à peu près 20 % du nombre total de mammifères utilisés en recherche (3).

Depuis les quatre-vingts dernières années, le rat a été utilisé dans presque tous les aspects de la recherche biomédicale et comportementale et de la toxicologie. Les mutations génétiques et la sélection ont produit de nombreux modèles de recherche extrêmement valables dont nous donnerons des exemples à l'item 3. Sélection. Une publication récente sur les applications en recherche biomédicale donne une liste de domaines de recherche dans lesquels le rat est largement utilisé et particulièrement utile: toxicologie, tératologie, oncologie expérimentale, gérontologie expérimentale,

recherche cardiovasculaire, immunologie, recherche dentaire, immunogénétique et parasitologie expérimentale (5).

Le rat est aussi le mammifère d'expérimentation le plus largement utilisé dans les études comportementales pour lesquelles, incidemment, la souris ne convient pas. De plus, le rat a été traditionnellement l'animal de choix dans beaucoup de projets de recherche sur la nutrition mais il ne faut pas oublier que son penchant naturel à la coprophagie peut être un facteur limitant sur son utilisation dans certaines de ces études.

### 3. Sélection

- a. **Sélection génétique:** Les rats, comme les souris, sont disponibles dans des variétés plus ou moins génétiquement définies et beaucoup moins nombreuses et souvent beaucoup moins définies que ne le sont les souches de souris.

Les deux souches de rats les plus répandues sont celles que l'on dénomme Wistar et Sprague-Dawley. Elles proviennent toutes les deux de colonies aux États-Unis et elles ont été disséminées à travers le monde depuis cinquante ans et plus donnant ainsi naissance à de nombreuses lignées. Chacune d'entre elles reflète les différences dans la sélection, les influences environnementales, l'échantillonnage génétique et possiblement la contamination qui sont intervenues au cours de leur développement. Il est important de réaliser que, à moins que les animaux de n'importe lequel stock non consanguin de rats habituel proviennent de la même lignée, elles n'ont pas grand chose de commun excepté leur nom. Pour cette raison, si le génotype est important dans une étude en particulier, on conseille d'utiliser des souches consanguines plutôt que non consanguines.

Il existe d'autres souches communes de rats vaguement définies comme les Long-Evans qui sont des animaux à capuchon issus d'un croisement entre un mâle sauvage et une femelle de la souche Osborne-Mendel qui a été constituée pour des études nutritionnelles.

Il y a, malgré ces commentaires, des différences constitutionnelles entre les animaux des souches communes de rats comme, par exemple, le rat Wistar qui possède une tête plus large et une queue plus petite que le Sprague-Dawley alors que le Long-Evans et d'autres variétés de rats à capuchon sont plus petits. On mentionne aussi que la susceptibilité aux maladies et l'agressivité varient parmi ces souches (1, 3), mais dans la pratique, ces caractéristiques semblent varier plus entre les lignées d'une souche qu'entre les souches elles-mêmes.

Un certain nombre de souches et de lignées moins communes mais plus définitivement définies ont été établies par sélection et par mutation. Elles sont perpétuées parce que leurs génotypes sont particulièrement appropriés à des études biomédicales ou comportementales spécifiques.

Quelques-unes parmi les plus connues et leur utilité primaire sont citées ci-dessous:

ACI:	Anomalies urogénitales congénitales
CAR; CAS:	Résistantes à la carie dentaire; susceptibles à la carie dentaire
SHR:	Rat souffrant d'hypertension spontanée (athérosclérose, paralysie cérébrale, évaluation de médicaments cardiaques, érythrocytose (7))
AA; ANA:	Rat buvant de l'alcool; rat refusant l'alcool (8)
Rat Brattleboro:	Diabète insipide; absence de vasopressine (9)
BB:	Spontanément diabétique (10)
Rat Zucker:	Obésité (11)

- b. **Sélection écologique:** Les rats sont élevés dans des classes écologiques comme celles déjà décrites dans le chapitre XIX sur les souris d'expérimentation. Cela signifie que, en plus des animaux élevés d'une façon conventionnelle, les rats indemnes de micro-organismes, gnotoxéniques et élevés à l'abri de barrières (avec des flores microbiennes plus ou moins définies) sont tous disponibles pour le chercheur. La plupart des rats que l'on obtient du commerce de nos jours sont identifiés par leur dernière classe et comme étant indemnes d'organismes pathogènes spécifiques (IOPS), (SPF: Specific pathogen-free en anglais).

L'abréviation IOPS (SPF) a peu de signification à moins que les organismes pathogènes spécifiques soient identifiés et qu'une copie du dernier rapport médical sur la colonie d'élevage soit fournie par le vendeur. En ce qui concerne les rats qui doivent être utilisés dans des expériences chroniques (plus de 12 mois), le seul organisme pathogène le plus important dont ils doivent être indemnes est sans contredit le *Mycoplasma pulmonis* qui est la principale bactérie responsable de la pneumonie murine chronique (mycoplasmosse respiratoire murine ou MRM) du rat (12). Dans le passé, la MRM s'est avérée l'empêchement majeur contre la réussite et l'analyse d'expériences chroniques faites avec des rats élevés de façon conventionnelle. Cette mycoplasmosse est toujours présente au moins sous forme d'infection latente, dans un certain nombre d'institutions où il existe de petites colonies d'élevage de rats. Sa distribution chez les rats d'expérimentation conventionnels est tellement grande qu'elle est l'argument le plus convaincant en faveur de la dérivation par césarienne, de l'élevage à l'abri de barrières et/ou d'un contrôle strict de la colonie.

## B. CARACTÉRISTIQUES

### 1. Particularités du développement

Le raton à la naissance pèse à peu près 5 grammes, est aveugle mais très actif et il atteint rapidement 35-50 grammes en trois semaines. Le mâle adulte pèsera 400-500 grammes alors que la femelle adulte pèsera environ 100 grammes en moins. Le rapport taille/poids varie beaucoup selon les lignées. Le squelette des adultes continue de croître graduellement pendant toute la vie de l'animal parce que l'épiphyse des os longs du rat ne devient pas complètement inactive.

Un rat en santé peut vivre de 2 1/2 à 3 ans dépendant de la souche, du sexe, des conditions environnementales et d'autres variables (5, 13). Les rats Sprague-Dawley mâles à flore définie vivent à peu près 2 ans comparativement à une moyenne de 31 mois pour les mâles ACI (14). Les poils des jeunes rats albinos sont d'un blanc soyeux mais ils deviennent progressivement plus rugueux et décolorés (gris jaunâtre) avec l'âge. La dentition est typique de celle des Muridés en ce sens que les incisives sont par paires, croissent continuellement et possèdent de l'émail seulement sur le bord coupant (en avant). Les trois paires de molaires sont des dents permanentes seulement (pas de dentition de lait); leurs pointes sont ouvertes et elles ne sont pas émaillées.

## 2. Morphophysiologie

Le tissu adipeux multiloculaire (graisse brune) est composé de cellules remplies d'une multitude de petites gouttelettes de lipides brunes qui n'entrent pas en coalescence comme dans la cellule adipeuse ordinaire «à enclave lipidique». La graisse multiloculaire est distribuée d'une façon diffuse dans les régions dorsale, latérale et ventrale du cou ainsi que dans le rétropéritoine particulièrement dans la région pelvienne du rein. L'accumulation importante de la graisse brune dans la région interscapulaire épouse l'apparence d'une glande et elle est identifiée comme la glande de l'hibernation. Ses fonctions exactes ne sont pas encore complètement élucidées même si on sait qu'elle est importante pour la vie du rat et qu'elle joue un rôle majeur dans la thermogénèse. A cause de ces raisons, le rat est utilisé couramment comme un modèle pour les études portant sur l'adaptation au froid (15).

L'estomac du rat, comme celui des autres rongeurs, possède une grande portion aglandulaire ou estomac antérieur qui compte pour plus du tiers de l'ensemble de la muqueuse gastrique. La partie glandulaire ne renferme pas de glandes cardiaques et elle est riche en mastocytes gastriques (production d'histamine); les glandes pyloriques, quant à elles, sont confinées à l'antrum. Quant au gros cécum, il participe à la digestion de la cellulose. Un atlas et une revue de l'anatomie et des caractéristiques biologiques et morphophysiologiques générales du rat ont été publiés récemment (16, 17).

Le fait qu'il existe des néphrons superficiels dans le cortex rénal du rat a permis d'établir un modèle expérimental sur l'évaluation de la fonction tubulaire in vivo en utilisant la technique de microbiopsie (18).

On a décrit récemment la présence d'un bouchon urétral comme une caractéristique normale de l'urèthre proximale de tous les mâles faisant partie des Muridés et des Cavidés et l'absence de ce bouchon serait en retour associée à une santé chancelante. Il est cliniquement semblable aux sécrétions des vésicules séminales et au bouchon copulatoire du vagin des rongeurs femelles; sa présence, cependant n'empêche pas la miction (19).

Les données hématologiques et de chimie clinique des rats d'expérimentation ont été revues en détail récemment et on a porté aussi une attention particulière à beaucoup de variables qui peuvent influencer ces paramètres (20).

### 3. Comportement

Les rats d'expérimentation sont généralement dociles et, si on les manipule fréquemment et gentiment ils deviennent apprivoisés et faciles à dresser. Ils se battent rarement entre eux alors qu'ils vivent et élèvent leurs petits collectivement souvent en partageant les responsabilités des soins. Ces types de comportement varient presque peu avec la souche et plus spécifiquement avec la sélection qui a été faite à l'intérieur d'une sous-lignée.

Les rats d'expérimentation, contrairement aux rats sauvages, se reproduisent pendant toute l'année. Ils sont omnivores et, si on en leur donne la chance, ils se creuseront un terrier.

Les rats sont des animaux intelligents qui démontrent une grande variété de caractéristiques comportementales représentant un intérêt en recherche psychophysiologique (21). De plus, ils s'adaptent bien aux études de psychologie et ils supportent bien la chirurgie (22). Finalement, les procédures pour l'implantation stéréotaxique d'électrodes dans divers centres du cerveau du rat sont bien établies (23).

## C. ACQUISITION

### 1. Sources

Depuis quelques années, une proportion croissante de rats utilisés en recherche et dans les tests au Canada, aux États-Unis et en Grande-Bretagne ont été acquis de sources commerciales dont les coordonnées sont disponibles (24, 25). Une majorité d'institutions de recherche et commerciales qui font de l'élevage et/ou qui sont des fournisseurs d'animaux ont mis sur pied des systèmes de barrières depuis quelques années. Cependant, il existe encore une multitude de petites colonies d'élevage qui ont souvent leur raison d'être sur la base de besoins spécifiques de recherche et d'élevage. On doit faire tous les efforts nécessaires pour que de telles colonies vivent dans les meilleures conditions pour que soit maintenu un état de santé aussi bon que possible.

Lorsqu'on envisage de faire des études chroniques, surtout si le protocole de recherche est «stressant», il est sans aucun doute préférable d'utiliser des animaux d'expérimentation élevés et maintenus à l'abri de barrières. En Grande-Bretagne, le MRC Laboratory Animals Centre, jusqu'à sa fermeture en 1982, appliquait un système d'accréditation de fournisseurs qui catégorisait les éleveurs-fournisseurs sur la base de contrôles microbiologique et génétique. Présumément parce qu'il était utile aux éleveurs et aux utilisateurs, ce service est désormais mis en application, sous une forme modifiée, par Animal Sciences Association of Great Britain. Même si un tel système n'existe pas au Canada et aux États-Unis, la plupart des fournisseurs de bonne réputation offrent maintenant des lignées élevées à l'abri de barrières provenant de parents eux-mêmes issus d'isolateurs et sur demande, fournissent des certificats de santé, des données génétiques et d'autres informations biologiques sur leurs rats.

Les chercheurs qui ne sont pas des généticiens peuvent souvent ne pas réaliser pleinement l'importance des disponibilités des souches consanguines et génétiquement définies de rats qui leur sont offertes. Des efforts concrets ont été faits pour mettre ces données toujours croissantes dans une perspective telle que les

choix disponibles peuvent être mieux appréciés et les ressources en animaux mieux utilisées (26, 27).

Le NIH Rodent Repository fondé en 1975 sous les auspices du Veterinary Resources Branch, NIH, Bethesda, maintient des colonies d'origine de souches consanguines et cogéniques à la fois de rats et de souris aussi bien qu'un noyau de colonies d'un certain nombre de souches non consanguines et de mutants. Cette ressource est indexée périodiquement (28) et de petites quantités d'animaux peuvent être obtenues dans le but d'établir des colonies d'élevage; cependant, on ne peut pas obtenir d'animaux de cette source dans le but de les utiliser dans des projets de recherche.

## **2. Transport et réception**

Le transport, particulièrement aérien, est très éprouvant pour les rats. Ils perdent invariablement du poids, deviennent déshydratés et on doit leur fournir une période de récupération (période d'équilibre) de un à quatre jours proportionnellement au temps passé en transit. Des risques spécifiques associés au voyage proviennent de conditions climatiques adverses, particulièrement la chaleur et l'exposition possible à l'infection.

Le transport direct du fournisseur à l'utilisateur par camion climatisé est généralement bien toléré et effectué quand c'est possible. Cependant, dans des pays comme le Canada où les distances séparant les fournisseurs des usagers sont souvent de l'ordre de milliers de milles, le transport aérien est souvent difficile à éviter. Les problèmes occasionnés par ce mode de transport peuvent être minimisés si l'horaire est bien fait et si une notification appropriée du départ, du trajet et de l'arrivée des animaux est faite correctement. Dans ces circonstances, il est absolument essentiel de fournir de l'eau et de la nourriture en tout temps pendant le trajet (29, 30).

A l'arrivée, on doit évaluer l'état de santé des animaux de la même manière que celle décrite au chapitre XIX sur les souris d'expérimentation. Lorsque les installations le permettent, on devrait fournir une (des) pièce(s) spécifique(s) pour chaque fournisseur plutôt qu'en fonction de la quarantaine. De toute façon, on ne doit pas, dans la mesure du possible, faire cohabiter des rats provenant de sources de fournisseurs différents. Les animaux indemnes d'organismes pathogènes spécifiques (IOPS) (SPF) et plus spécifiquement les animaux gnotoxéniques devraient être expédiés dans des contenants protecteurs et soumis à une quarantaine séparée et à l'abri de barrières adéquates (couvercles filtrant, supports à cage à flux laminaire, pièce séparée, etc.).

## **3. Identification et dossiers**

L'identification des cages des animaux nouvellement arrivés doit être faite au moment où on transfère les animaux de leur contenant de transport à leur cage. Quant à l'identification de chaque animal, elle doit être faite au début de chaque expérience. Pour les essais à court terme (deux à trois semaines), des marques de toutes sortes de couleurs et de localisations différentes sur la queue sont satisfaisantes pour identifier les animaux individuellement. Cependant, pour les expériences à long terme, on devra établir un système de marques auriculaires comme le poinçon ou l'entaille (31). Les étiquettes d'oreille ne sont pas recommandées particulièrement chez les animaux en groupes car souvent les animaux les arrachent. Quant aux tatouages, on peut les utiliser sur les oreilles des

ratons au moment du sevrage ou bien sur les surfaces palmaires et plantaires des pieds des nouveaux-nés (5). Il est inutile d'insister sur l'importance d'identifier correctement les animaux et de garder des dossiers complets sur les rongeurs d'expérimentation car ces pratiques sont des éléments essentiels des «bonnes méthodes d'expérimentation» (BME) (Good Laboratory Practices (GLP en anglais)) exigées par les agences gouvernementales de contrôle aux États-Unis, au Canada et dans beaucoup d'autres pays.

## D. INSTALLATIONS ET ENTRETIEN

### 1. Hébergement

- a. **Commentaires généraux:** La discussion et les références sur les plans de construction des installations d'hébergement contenues dans le chapitre sur les souris valent aussi pour l'hébergement des rats. De plus, il est inutile de répéter ici les commentaires généraux contenus dans ce même chapitre sur la manipulation et le contrôle du macro-milieu (installations et chambres d'animaux) et sur le rôle encore plus délicat du micro-milieu (cages). Finalement, on retrouvera dans une révision détaillée des facteurs affectant les réponses biologiques chez le rat les principes de base sur la conception et l'entretien adéquat des installations physiques d'hébergement des rats (32).
- b. **Cages:** La cage représente la résidence principale dans laquelle le rat passe sa vie. Sa forme, sa fabrication et son contenu (bouteilles d'eau, nourrisseurs, litière et occupants) influencent profondément le micro-milieu qui se crée à l'intérieur de la cage, micro-milieu qui, à son tour, à travers les variations sur la physiologie, la santé et le comportement de ses occupants, influence aussi profondément les réponses expérimentales.

Les choix très largement diversifiés de cages pour les rats peuvent se résumer ainsi:

- i. petites cages rectangulaires vs cages à fond en treillis métallique
- ii. litière vs plateau à excréments recouvert de papier
- iii. métal vs matière plastique
- iv. couvercle en métal perforé vs en matière plastique vs en treillis métallique
- v. couvercle filtrant vs non filtrant.

Il y a du pour et du contre pour chacune de ces catégories qui ont fait l'objet d'une révision dans plusieurs publications et au cours de plusieurs symposiums sur le soin des animaux (32, 33, 34, 35). Évidemment les choix sur lesquels on s'arrêtera dépendront d'éléments tels les objectifs expérimentaux et la disponibilité de l'équipement; cependant, il y a quelques points qu'on ne doit pas oublier lorsqu'on considère ces options:

- vi. Le métal galvanisé ne doit pas être utilisé dans les études de toxicité à long terme et dans les études nutritionnelles parce que les rats ingèrent le zinc qui recouvre le métal.

- vii. Aucune sorte de métal ne doit entrer dans la fabrication des cages ou des équipements auxiliaires qui viennent en contact avec les animaux qui font l'objet d'études sur les oligo-éléments (chromium, nickel, etc.) Des cages construites de matière plastique (et exemptes de métal) suspendues individuellement et adaptées à des supports standards ont déjà fait l'objet d'une publication (36).
- viii. L'hébergement individuel des rats entraîne des changements importants dans leur caractère, au niveau des surrénales, de la thyroïde, des enzymes microsomiques hépatiques et de certains paramètres de comportement comme la consommation d'alcool (32).
- ix. L'addition d'un grillage métallique dans le fond des cages rectangulaires (type «shoe box») en polycarbonate (clair) ou en polypropylène (translucide) peut s'avérer utile dans les essais biologiques de carcinogènes ou dans des études nutritionnelles. L'accumulation d'ammoniaque est de beaucoup réduite si on ajoute de la litière absorbante sous le grillage métallique et elle est minime si les animaux sont hébergés directement sur la litière (sans grillage métallique). Cependant, cette dernière formule augmente considérablement l'étendue de la contamination aérogène (37).
- x. Tous les avantages à utiliser des couvercles filtrants doivent être mesurés avec prudence quant aux changements qu'ils provoquent dans l'environnement au sein de la cage particulièrement en ce qui a trait à l'accumulation d'ammoniaque. Comme on l'a déjà mentionné pour les souris, si on décide d'utiliser des couvercles filtrants, on devra augmenter la fréquence de nettoyage des cages, diminuer le nombre d'animaux par cage, abaisser la température de la pièce et favoriser plus de changements d'air à l'heure.

## 2. Environnement

- a. **Litière/Ammoniaque:** On connaît maintenant l'influence que peut avoir le design des cages sur l'accumulation d'ammoniaque. Il existe suffisamment d'évidence pour rendre l'ammoniaque responsable de l'aggravation des problèmes respiratoires, particulièrement les mycoplasmoses chez le rat (38, 39). De plus, il est aussi évident que l'ammoniaque environnant, aux concentrations que l'on rencontre normalement dans les chambres d'animaux (sous 100 ppm), cause probablement des effets néfastes minimaux chez les rats qui autrement sont en santé (40).

Les critères d'une bonne litière et les effets des différents types de litière ont été discutés brièvement dans le chapitre sur la souris. Le contrôle de qualité et le soin qu'il faut établir au cours de l'entreposage de ces matériaux sont de la plus haute importance parce que ce sont des produits naturels qui ont une longue durée de conservation et que souvent ils sont contaminés par les rongeurs et les chats. Une litière contaminée peut introduire des maladies (particulièrement des mites et des ténias) dans une colonie de rats. La litière destinée aux colonies à l'abri de barrières doit être stérilisée. Malheureusement, il existe au moins une petite possibilité que les stérilisations à l'oxyde d'éthylène et à la vapeur peuvent être des agents contaminants pour certains matériaux de litière (41, 42).

- b. **Température et humidité:** Ces paramètres du milieu ont été discutés dans le chapitre sur la souris et ils ont été revus en détail dans plusieurs publications (32, 33, 34, 43). Les variations de température et d'humidité suggérées pour les rats dans le volume 1 du *Manuel* (44) sont de 20°-25°C (68°-77°F) et 50-55 % respectivement. Les rats peuvent, à la condition qu'on leur permette une période d'acclimation adéquate, s'adapter à des écarts de température beaucoup plus grands tout en étant apparemment confortables. C'est particulièrement évident en ce qui concerne les basses températures auxquelles ils s'ajusteront facilement jusqu'à 10°C (50°F) ou moins. Les variations d'humidité de l'ordre de 40-70 % sont aussi tolérées sans effets néfastes apparents (45, 46). Cependant, la température et l'humidité doivent être maintenues relativement constantes pendant la durée d'une expérience afin de minimiser les effets indirects considérables des fluctuations sur les résultats de la recherche à travers des changements dans la nourriture et la consommation d'eau (45) et une susceptibilité accrue à certaines maladies (47). Les gains de poids corporel ne diffèrent pas chez les rats hébergés à des températures variant de 18°-28°C (64°-82°F) alors qu'elles diminuent lorsque les variations excèdent cette limite. Quant à la consommation de nourriture, elle ne diffère pas à des températures de 20°-26°C (66°-79°F) et la consommation d'eau non plus entre 12°-26°C (54°-79°F). Finalement, les valeurs hématologiques et de biochimie clinique demeurent constantes entre 20°-26°C (48).
- c. **Changements d'air:** La ventilation est très importante dans les salles d'hébergement des rats à cause de la très grande susceptibilité de cette espèce aux maladies respiratoires. On recommande de 10-20 changements d'air frais à 100 % à l'heure selon la densité de population animale ou si on utilise des couvercles filtrants ou non (44).

Les systèmes à flux d'air unidirectionnel et les supports filtrants sont recommandés parce qu'ils permettent une recirculation d'air sûre par l'élimination de particules qui pourraient agir comme vecteurs pour des substances toxiques et pathogènes. Ces systèmes impliquent des filtres HEPA et au moins 10 % d'échanges d'air frais (32). Les supports à flux laminaire sont utilisés avec succès comme des aires de mini-barrières à l'intérieur des salles d'animaux conventionnelles. L'emploi d'unités de filtration portatives peu dispendieuses devrait être envisagé dans le but de réduire les odeurs animales, l'ammoniaque et les niveaux de micro-organismes de l'atmosphère. Ces unités peuvent s'avérer particulièrement utiles dans les pièces qui n'ont pas été originellement construites pour l'hébergement d'animaux et qui n'ont pas été adéquatement aménagées à cette fin (49).

La contamination virale entre les supports de cages n'est pas nécessairement éliminée dans les enceintes où il y a une ventilation massive à flux laminaire et des contaminations spontanées de cage à cage peuvent aussi se produire dans de tels systèmes de ventilation. En conséquence, on suggère que les rats qui sont hébergés dans de telles enceintes devraient provenir du même fournisseur présumant ainsi que leurs profils microbiens sont comparables (50). Les points que nous venons de mentionner soulignent l'importance d'établir un programme de contrôle adéquat si l'on veut qu'un système de barrière soit efficace et fiable (voir chapitre sur les souris).

- d. **Éclairage et bruit:** L'importance et l'influence que l'éclairage exerce sur les rats sont les mêmes que celles décrites dans le chapitre sur les souris. Les dommages rétinien imputés à l'exposition à la lumière et à l'âge chez plusieurs lignées de rats albinos sont généralement semblables à ceux que l'on rencontre chez les souris albinos (51).

Les rats possèdent une ouïe très sensible de sorte que des bruits de 160 décibels causent des blessures physiques à leurs oreilles, comme cela se produit chez l'homme. En conséquence, le niveau de bruit dans les salles à rats devrait se situer sous les 85 décibels (32). Un bruit de 107-112 décibels qui a duré 1 1/2 heure par jour pendant cinq jours consécutif a été rendu responsable de l'augmentation significative du poids des surrénales, d'une éosinopénie relative, d'une leucocytose et d'une augmentation de la prise alimentaire accompagnée d'un gain de poids plus faible que celui des animaux contrôles (52).

## E. NUTRITION

### 1. Besoins nutritionnels

Les éléments nutritifs qui composent la ration des rats sont généralement basés sur les recommandations du National Research Council (U.S.) Committee on Nutrient Requirements of Domestic Animals (53). La plupart des données expérimentales que l'on possède sur ces besoins, particulièrement celles concernant les effets des micro-éléments (vitamines, minéraux, etc.) sur les processus physiologiques et pathologiques, ont été obtenues à la suite d'études sur les rats d'expérimentation. C'est ainsi qu'à partir de ces données on peut établir sans l'ombre d'un doute les besoins pour la plupart de ces éléments nutritifs (54). Cependant, on est moins certain, à cause du manque de données factuelles, quant aux besoins du rat en éléments nutritifs majeurs particulièrement en terme de corrélations protéinocaloriques. Beaucoup de données utilisées dans les formules des rations alimentaires proviennent d'informations obtenues d'animaux monogastriques de la ferme comme le porc (55).

Les quantités d'éléments nutritifs entrant dans la composition du régime alimentaire des rats ont récemment fait l'objet d'une révision exhaustive (54) incluant les conclusions suivantes: a) un taux adéquat de protéines pour favoriser la croissance, la gestation et la lactation est probablement 12 % alors que les rats adultes, les nongestants et les âgés ont besoin d'une quantité moindre de protéines et d'acides aminés; b) la quantité minimale de graisse dans la ration ne doit pas être inférieure à 5 % quoique souvent les rations contiennent jusqu'à 15 %; c) il doit y avoir au moins 0,3 % (par poids) d'acide linoléique dans le régime alimentaire. Cet acide aminé essentiel est utilisé tel quel et le rat peut le convertir en acide arachidonique qui est l'acide aminé essentiel le plus important des membranes cellulaires et qui est aussi un important précurseur des prostaglandines (54).

La composition du régime est une variable expérimentale très importante que l'on n'a souvent pas tendance à contrôler adéquatement ni à l'indiquer au dossier (excepté dans les expériences nutritionnelles) d'une façon suffisamment précise pour permettre sa propre évaluation comme une variable ou pour une répétition précise du protocole original (56).

Le rat est un animal très coprophage et cette habitude peut fausser et masquer les effets d'un régime sur les résultats expérimentaux. Il y a possiblement jusqu'à 50-65

% des matières fécales de rats nourris avec des régimes alimentaires adéquats qui peuvent être réingérées par coprophagie (57); il semble que cette caractéristique soit amplifiée si les rats sont alimentés avec des régimes déficients. L'usage de planchers en grillage métallique n'empêche pas la coprophagie et les rats vont tout faire pour atteindre leurs fèces (58).

Il faut quelquefois modifier profondément les besoins nutritionnels pour rejoindre les besoins spécifiques des divers modèles génétiques (59) ou pour établir des modèles nutritionnels en créant des déficiences contrôlées. Ces dernières sont très largement utilisées dans les études de carcinogénèse et de toxicité (60, 61).

## **2. Aliments et approvisionnement en eau**

La majorité des rats d'expérimentation sont nourris avec des aliments secs en cubes d'origine commerciale. Dans la plupart des cas, ces aliments sont satisfaisants à la condition qu'ils proviennent de manufacturiers reconnus, qu'ils soient raisonnablement frais et emmagasinés adéquatement. Ces facteurs ainsi que les concepts inhérents aux différents types de formules alimentaires et ceux concernant la propagation de contaminants par les aliments ont fait l'objet d'une discussion générale lorsqu'on a traité des régimes alimentaires des rongeurs dans le chapitre sur les souris.

Les rats adultes mangent de 12-30 grammes d'aliments secs en cube quotidiennement et, si le régime est complet, ils n'ont pas besoin de suppléments alimentaires.

Les régimes alimentaires définis, soit d'une façon semi-synthétique ou clinique, doivent être souvent utilisés dans des études de carcinogénèse et dans des essais biologiques de substances toxiques aussi bien que dans des expériences nutritionnelles. Lorsqu'on doit utiliser de tels régimes alimentaires, il y a plusieurs avantages à les préparer et à les servir sous forme de gélose. Cela a comme conséquences de diminuer le poids corporel et d'augmenter la longévité, de permettre une croissance optimale, de minimiser les pertes et de réduire les risques de contaminations croisées au sein des animaux et ceux auxquels le personnel est exposé (62, 63).

Les rats boivent 140 millilitres d'eau par kilogramme de poids corporel par jour. Ils boivent en moyenne 2 ml d'eau pour chaque gramme de nourriture sèche qu'ils mangent et cette valeur est beaucoup plus faible si la nourriture est sous forme de gélose, laquelle contient approximativement 50 % d'eau.

Les considérations concernant l'acidification des sources d'approvisionnement en eau, particulièrement dans les systèmes automatiques sont les mêmes que celles mentionnées dans le chapitre qui traite des souris.

## **F. REPRODUCTION**

### **1. Maturation et identification sexuelles**

La puberté survient entre 50 et 60 jours après la naissance chez les deux sexes, l'ouverture du vagin se produisant habituellement deux semaines plus tard. La descente des testicules se produit bien avant la puberté, habituellement autour de l'âge du sevrage. Les testicules du rat sont rétractiles.

Les rats se reproduisent tout au cours de l'année et ils ne démontrent pas de préférence évidente pour aucune des saisons; cependant, la fréquence des portées diminue au cours des mois d'hiver à moins qu'un éclairage artificiel soit maintenu pendant approximativement 14 heures par jour.

Les portées sont sevrées trois semaines après la naissance, période à laquelle les ratons pèsent de 40-50 g. L'accouplement peut se produire dès que le vagin est ouvert mais on devrait le retarder jusqu'au moment où la femelle est âgée d'au moins 90 jours et qu'elle pèse 200-275 g, tout dépendant de la souche de rat. Les femelles continuent d'élever leurs portées jusqu'à un âge avancé mais elles deviennent progressivement moins régulières après 12-15 mois. Leur capacité de reproduction (grosesse des portées, nombres d'animaux sevrés, etc.) commence à diminuer avant que les femelles aient à peine atteint l'âge d'un an.

Les jeunes mâles ne devraient pas être utilisés comme géniteurs avant l'âge de trois mois ou bien avant d'avoir atteint 274-350 g de poids corporel.

L'identification sexuelle des ratons peut être facilement réalisée chez les nouveaux-nés en comparant les distances ano-génitales entre les individus d'une même portée. Chez le mâle, la distance est deux fois plus grande que celle de la femelle. De plus, les papilles génitales du mâle sont plus grosses. Les mamelons de la femelle apparaissent au bout de la première semaine et les testicules du mâle peuvent habituellement être palpés dans le scrotum après la troisième semaine si on tient le raton la tête en haut.

Les rats sevrés doivent être séparés sexuellement vers l'âge de sept semaines afin d'éviter la reproduction précoce.

## 2. Cycle oestrien

Les rattes sont polyoestriennes et elles acceptent le mâle à tous les 4 ou 5 jours au moment de l'ovulation qui dure chaque fois de 12-14 heures. Les stades du cycle sont facilement identifiables cytologiquement à partir de frottis vaginaux (64). A cause de sa courte durée et sa régularité, le cycle oestrien de la ratte n'a pas besoin d'être vérifié par la cytologie excepté dans les cas où des gestations prédéterminées sont exigées. Le succès de l'accouplement peut être évalué par l'observation du bouchon copulatoire (vaginal) chez la femelle (il est plus facile à voir chez la souris) ou par l'identification des spermatozoïdes dans les frottis vaginaux (ils sont présents dans le mucus vaginal pendant au moins 12 heures après la copulation).

Les gestations prédéterminées sont habituellement mises en route la nuit à la suite de la formation du couple. Une précision plus grande avec essentiellement le même taux de conception peut être atteinte à la suite d'une mise en présence de deux heures du mâle et de la femelle le matin de la confirmation cytologique vaginale de l'oestrus (65).

L'oestrus peut être synchronisé et son apparition stimulée si on introduit un mâle dans une cage contenant des femelles. Cela est appelé communément «l'effet de Whitten», une réponse aux phéromones (odeurs) mâles qui est beaucoup plus prononcée chez les souris que chez les rats (1).

La gestation dure de 21-23 jours. Cependant, la période entre la fécondation et la naissance peut être allongée jusqu'à 30 jours et plus à cause du délai d'implantation

lors de la reproduction post-partum. Ce délai semble être proportionnel au nombre de jeunes que la mère allaite. L'oestrus post-partum survient dans les 48 heures après la naissance et les accouplements pendant cette période ont des suites positives dans plus de 50 % des cas. Un échec dans la fécondation à ce moment-là retardera la reproduction de deux à quatre jours après le sevrage de la portée.

### 3. Systèmes d'élevage

- a. Le système d'accouplement monogame exige une très grande quantité de mâles et de cages mais il facilite la tenue des dossiers et la reproduction post-partum. A cause de cela, ce système est souvent préféré dans les petites colonies d'animaux consanguins.
- b. Le système d'accouplement polygame (harem) est le plus utilisé et peut impliquer de deux à six femelles dans une cage avec un mâle. Quand il y a plusieurs femelles dans un harem, il est d'usage de retirer celles qui sont gestantes avant la parturition et de les retourner dans le groupe aussitôt que leurs petits sont sevrés. De cette façon, on évite des interférences entre le mâle et les jeunes, des mortalités à la suite d'une surpopulation excessive et le mélange des portées. Cependant, la reproduction post-partum n'a pas lieu. Les harems comportant seulement deux femelles peuvent être laissés intacts sans grand danger d'apparition des désavantages déjà mentionnés, particulièrement si les jeunes sont retirés du harem pendant au moins 12 heures le jour après leur naissance afin d'éviter les problèmes qui accompagnent la reproduction post-partum.
- c. D'autres systèmes de reproduction utilisés à l'occasion incluent:
  - i. la rotation d'un mâle parmi sept femelles hébergées individuellement en le laissant une semaine avec chacune immédiatement après le sevrage;
  - ii. l'adoption croisée de petits pour établir des portées unisexuées allant jusqu'à 14 ratons par femelle. Il n'y a pas de rejets si c'est fait correctement mais cela exige que l'on ait une très grosse colonie ou un système de reproduction synchronisé de sorte que plusieurs portées naissent en même temps (66). Ce système possède des avantages évidents sur la grosseur des portées et la manipulation sexuelle quoiqu'il y a des indications que les femelles élevées entre elles peuvent produire des portées plus petites (67).

### 4. Facteurs influençant la fertilité et la reproduction

- a. **Génétiques:** On sait qu'il existe de très grandes variations au chapitre des performances de reproduction parmi les différents stocks, lignées et souches de rats d'expérimentation. Évidemment plusieurs d'entre elles sont le reflet de différences multifactorielles dans le génotype qui sont apparues d'une façon plus ou moins accidentelle au cours de la sélection pour d'autres caractéristiques. Un exemple de ces variations est celui de la fertilité supérieure des rats mâles ACI sur celle des rats mâles Sprague-Dawley du même âge; cette particularité est en corrélation avec le fait que les rats ACI vivent six mois de plus que les Sprague-Dawley (14).

D'autres exemples de différences dans la fertilité transmises génétiquement peuvent être reliés aux effets d'un seul gène comme la réduction importante dans

la grosseur des portées des rattes souffrant de jaunisse (j/j) (Gun) comparée à celle des femelles exemptes de jaunisse (+/j) de même souche (68). Les mutations, lorsqu'elles apparaissent spontanément dans une colonie d'élevage de rats, sont invariablement plus ou moins nuisibles. Ces mutations se manifestent fréquemment par des diminutions dans les performances de reproduction et on devrait, en règle générale, les éliminer par sélection négative (69).

- b. **Environnementaux:** Les degrés de température et d'humidité recommandés pour les colonies de rats ont déjà été mentionnés précédemment. Ce qui est probablement le plus important est d'éviter les écarts excessifs qui devraient se situer idéalement à moins de 1°C. En pratique, il semble qu'aucun des paramètres de reproduction chez le rat ne soit affectés à l'intérieur d'un écart de température aussi grand que de 12 à 28°C à la condition que cet écart soit franchi par intervalles de 2°C à la fois (48).

Les modèles de cage, la surface des planchers, les sortes de matériaux composant les litières, la surpopulation et la fréquence des nettoyages sont tous des facteurs connus qui influencent, à divers degrés, les performances de la reproduction. Les rôles de ces facteurs et ceux de la nutrition et de l'éclairage qui sont en quelque sorte définis plus clairement ont été révisés par plusieurs auteurs renommés (70, 71, 72).

## G. ENTRAVER ET MANIPULATIONS

### 1. Manipulation et entrave physique

La répétition des manipulations faites chez les rats au cours des nombreuses expériences peut représenter une variable importante non contrôlable si des procédures routinières et non stressantes ne sont pas instaurées.

L'usage de pinces et de gants pour prendre et manipuler les rats est rarement justifié et il n'est absolument pas apprécié de la part de l'animal qui dès lors a tendance à lutter, à se blesser et en conséquence à devenir plus difficile à manier au cours de manipulations futures.

Les rats s'adoucissent lorsqu'on les manipule avec les mains nues (à cause du dégagement de chaleur par les mains), cessent rapidement de lutter et deviennent progressivement plus dociles lors de manipulations subséquentes. Des méthodes pour empoigner et tenir les rats ont été décrites et illustrées fréquemment dans la littérature (1, 73, 74). En général, la procédure consiste à tenir l'animal à la base de sa queue avec une main alors que l'autre main empoigne le dos au niveau du thorax de telle sorte que le pouce et l'index sont situés derrière les coudes et les poussent vers l'avant; l'index peut être placé sous le cou en arrière du maxillaire inférieur. Si le rat est empoigné correctement, il ne peut pas mordre mais s'il essaye, on doit avoir plusieurs points présents à l'esprit lorsqu'on prend un rat d'expérimentation pour la première fois:

- a. ne pas empoigner ni mouvoir les mains soudainement, laisser le rat sentir notre main étant donné que la vue du rat est faible et qu'il a besoin de sentir la configuration de la main;
- b. ne pas avoir peur; la nervosité est contagieuse;

- c. ne pas exercer de pression sur le thorax ou autour de la gorge; cela obstrue la respiration et force le rat à se débattre;
- d. ne pas soulever un gros rat par le bout de la queue, la peau peut être facilement déchirée si l'animal se débat et elle peut même se détacher des tissus sous-cutanés de la queue;
- e. prendre les rats plus petits à la base de la queue—jamais plus loin que la base, car les rats se tortillent, grimpent le long de leur queue et mordent parce qu'ils ont peur;
- f. essayer de s'assurer que tous les animaux dans un groupe expérimental de rats soient manipulés par leurs responsables aussi souvent que possible avant le début d'une expérience.

Il existe sur le marché plusieurs types d'appareils à contention (entrave) mécanique. Ils sont construits pour un certain nombre d'usages telles l'injection ou la prise de sang, la collecte à court terme de liquides corporels à l'aide d'une canule et l'immobilisation (posture) pendant la chirurgie. Quelques-uns de ces appareils ont été décrits en détails par Kraus (73) qui, de plus, fournit plusieurs références utiles à la construction d'appareils maison semblables et économiques.

## 2. Échantillonnage et dosage

On a publié récemment un compendium extrêmement utile et complet d'appareils et de techniques applicables à tous les champs de recherche dans lesquels les rats sont utilisés (75). Cette monographie et le chapitre de Kraus (73) cité plus haut constituent des sources d'information très utiles sur les méthodologies concernant l'échantillonnage, le dosage et le contrôle des fonctions corporelles chez les rats d'expérimentation.

- a. **Généraux:** L'étendue des effets que même les stress les moins compliqués et les plus communs comme transporter une cage à rat ou fausser une technique d'échantillonnage peuvent produire est beaucoup plus importante qu'on ne le pense généralement. Une étude sur les caractéristiques sanguines et circulatoires reliées au stress a démontré l'énorme difficulté qui existe à obtenir des valeurs normales. Dans cette étude, on rapporte que le stress causé par le retrait d'une cage à rat d'une étagère est suffisant pour modifier la plupart des 25 paramètres mesurés par des marges de 10 à 500 % comparativement aux contrôles après des périodes de 2 à 5 minutes suivant le premier contact avec la cage (76). D'autres études montrent que des prises de sang de 1 ml à toutes les deux semaines, ce qui est une quantité généralement acceptée, n'affectent pas la plupart des valeurs hématologiques mais cependant causent une diminution persistante dans les gains de poids (77). On ne peut pas éliminer complètement ces effets mais il est important qu'ils soient connus et que l'on prenne toutes les mesures appropriées pour les minimiser.
- b. **Prise de sang:** Plusieurs techniques de prise de sang ont été décrites et révisées dans des publications récentes (58, 73, 75). Le choix d'une procédure dépend habituellement du volume de sang requis et de la fréquence de l'échantillonnage. D'autres considérations doivent inclure les effets possibles des anesthésiques et de la technique utilisée sur les éléments sanguins à l'étude.

En ce qui concerne les échantillonnages répétés de petites quantités de sang, le sinus orbital est l'endroit préféré pour les prises de sang (1, 58, 73, 75). Cette technique est généralement exécutée sous anesthésie; la guérison est rapide et complète et on peut la répéter quelques jours plus tard. La technique du sinus orbital habituellement utilisée chez le rat est la même que celle qui est décrite dans le chapitre sur les souris. Cependant, grâce à cette technique, on peut prélever de plus grandes quantités de sang (jusqu'à 4 à 6 ml chez des rats de 115 à 130 grammes) si on utilise une pipette plus grosse (13 x 100 mm) ou plusieurs petits tubes héparinés commerciaux (71). Lorsqu'on essaye, pour la première fois, d'obtenir du sang du sinus orbital, il est essentiel que le rat soit anesthésié et que l'opérateur ait rafraîchi ses connaissances anatomiques de la région oculaire (78). Il est important de savoir que si on utilise cette procédure à répétition, des dommages tissulaires surviennent comme ceux qui impliquent les glandes de Harder. On doit cependant différencier ces lésions de celles causées par la sialodacryoadénite virale (SDA) (79).

La ponction cardiaque est communément utilisée chez le rat lorsqu'on veut obtenir rapidement des échantillons de sang relativement importants de 5 ml ou plus. Cependant, cette procédure ne doit être entreprise que sur des rats sous anesthésie. On utilise une aiguille de calibre 24 de 1/2 pouce de long pour traverser la paroi thoracique. La pénétration doit être faite à un angle de 45° entre la 5<sup>ème</sup> et 6<sup>ème</sup> côte du côté du sternum. Lorsqu'on atteint l'intérieur du ventricule gauche, le sang monte rapidement dans la seringue.

Des modifications à la technique de la ponction cardiaque pour l'adapter aux rats plus petits et aux nouveaux-nés en plus d'autres procédures de ponction veineuse ont été révisées récemment (58, 73, 75).

- c. **Cathétérisation:** Les vaisseaux sanguins de la queue sont souvent les sites choisis pour l'insertion de cannules pendant des périodes de temps relativement courtes. Si on maintient le rat dans un appareil à contention (entrave) approprié, on n'est pas obligé de maintenir l'animal sous anesthésie pendant toute la durée de la cathétérisation. On peut ponctionner soit la veine caudale latérale ou l'artère caudale et, chez le rat, la ponction de ces vaisseaux est plus difficile à exécuter que chez la souris à cause de l'épaisseur et de la dureté de la peau. Les méthodes pour amollir la peau et dilater la veine sont similaires à celles recommandées chez la souris. Si la procédure est terminale, on peut disséquer les vaisseaux et les rendre visibles. L'insertion de cathéters en polyéthylène peut être protégée à l'aide d'une feuille en grillage métallique enrubannée autour de la queue pour permettre une infusion continue pendant plusieurs jours (58, 80).

L'insertion chronique de cathéters est généralement faite dans la veine jugulaire particulièrement lors des études pharmacocinétiques (58, 75). La cannulation de la veine mésentérique crânienne dans le but d'injecter des substances (des cellules d'ilôts pancréatiques, par exemple) dans le système porte pendant de longues périodes de temps a déjà fait l'objet d'une publication (81).

d. **Échantillonnage:**

- i. Urine: L'utilisation de cages à métabolisme est la méthode la plus facile pour obtenir des échantillons d'urine et de fèces. Celles que l'on retrouve dans le commerce sont construites de telle sorte que l'urine et les fèces sont séparées sans qu'elles ne soient contaminées par la nourriture, l'eau ou les poils. Ces

cages sont soit en métal ou en matière plastique. Plusieurs modèles de cages à métabolisme construites ou modifiées en laboratoire aussi bien que d'autres méthodes de collectes d'urine et de fèces ont fait l'objet de quelques descriptions dans la littérature (58, 73, 75).

On peut collecter de l'urine de rats qui sont logés dans des cages suspendues dont le fond est en tiges métalliques en utilisant du papier d'aluminium froissé que l'on attache sous le grillage métallique des cages. De cette façon, en une heure, on peut récolter 1 ml ou plus d'urine de la plupart des rats (82).

La ponction de la vessie, la fistule urinaire, la cathétérisation chez les femelles et les cathéters de drainage externes chez les mâles sont toutes des procédures qui ont déjà été décrites et qui, pour la plupart d'entre elles, sont utilisées lorsqu'il faut faire une collecte d'urine complète ou lorsque les expériences sont terminales.

- ii. Fèces: La collecte des fèces sans contamination peut être faite en utilisant un godet anal, lequel est plus efficace chez les rats mâles parce que leur distance papillaire ano-génitale (urétrale) est deux fois celle de la femelle. Une description de la fabrication et l'usage du godet anal a déjà fait l'objet d'une publication (83).
  - iii. Autres liquides organiques: Des méthodes d'échantillonnage de bile, de sperme, de sécrétions pancréatiques et diverses autres substances peuvent être consultées soit dans l'article de Kraus (73), soit dans les monographies de Waynforth (58) et Petty (75).
- e. **Dosage stomacal et alimentation forcée:** les procédures sont faciles d'exécution chez le rat d'expérimentation bien entraîné (apprivoisé). Habituellement on n'a pas besoin d'un ouvre-bouche pour introduire même un cathéter French numéro 8, quoique l'usage d'un ouvre-bouche simple a déjà été décrit et on devrait en avoir un à sa disposition (58). Chez les rats adultes, la distance entre les incisives et l'estomac pylorique est approximativement de 15 cm et on doit, en conséquence, faire une marque d'identification sur le tube, lequel doit être lubrifié avant son passage dans l'oesophage. Dans la plupart des cas de dosage occasionnel, l'usage d'une aiguille d'inoculation gastrique courbe à bout rond est la méthode de choix. On doit immobiliser le rat en plaçant le pouce et l'index de chaque côté de son cou derrière la mâchoire. Le bout rond de l'aiguille est introduit, en lui faisant faire une rotation, à travers la fissure entre les premières molaires et les incisives puis acheminé au-dessus de la langue jusqu'au pharynx et au moment où le rat avale, l'extrémité ronde de l'aiguille pénètre dans l'oesophage (73). D'autres procédures de rechange de manipulation et de passage des tubes ou aiguilles sont décrites et illustrées dans quelques publications (58, 75).

## H. ANESTHÉSIE

### 1. Procédures générales

La plupart des risques qui accompagnent l'anesthésie chez le rat peuvent être reliés aux effets de la mycoplasme respiratoire murine (MRM). Le facteur de risque provenant de cette condition est particulièrement prononcé lorsque le maintien prolongé de l'anesthésie avec un agent inhalateur est nécessaire (58).

L'atropine doit être administrée à une dose de 0,05 mg/kg en injection intramusculaire à peu près 30 minutes avant l'induction de l'anesthésie pour diminuer les sécrétions salivaires particulièrement si la kétamine ou le pentobarbital est utilisé.

L'hypothermie demeure toujours un risque en anesthésie des petits rongeurs à cause du taux élevé de leur métabolisme. Cependant, elle peut être prévenue, pendant la chirurgie et/ou la période de réveil, si on utilise judicieusement une lampe infrarouge, un matelas chauffant ou des bouteilles d'eau chaude.

Le contrôle de la profondeur de l'anesthésie est particulièrement important à cause de la rapidité avec laquelle peut survenir une insuffisance cardiaque ou respiratoire suite à l'apparition des premiers signes d'apnée qui peuvent être mortels pour le rat. Les réflexes plantaires et auriculaires sont les indicateurs les plus sûrs de la profondeur de l'anesthésie et on doit observer les animaux de très près afin de déceler des signes précurseurs d'apnée comme la cyanose des muqueuses et les irrégularités dans le rythme respiratoire. L'anesthésiste doit, en tout temps, pouvoir être en mesure d'administrer de l'oxygène et de pratiquer la respiration artificielle.

## **2. Anesthésiques injectables**

Les analgésiques neuroleptiques possèdent plusieurs avantages comme anesthésiques injectables pour les rats même si les barbituriques (habituellement le pentobarbital sodium) sont toujours les agents les plus utilisés à cette fin (73). Cela est surprenant étant donné la marge de sécurité étroite du pentobarbital dont la dose anesthésique se situe autour de 40 mg/kg et le LD-50 à seulement 60 mg/kg (1). Une étude comparée du taux de mortalité entre la neuroleptanalgie à l'étorphine-acépromazine et l'anesthésie au pentobarbital sodium a démontré qu'il était plus élevé avec l'anesthésie qu'avec la neuroleptanalgie (84). Les variations individuelles avec le pentobarbitone sont très importantes surtout celles ayant rapport avec les risques très élevés associés à la MRM et la période de réveil qui peut s'avérer excessivement longue. Un avantage supplémentaire des neuroleptanalgésiques est celui où les effets de leur action narcotique peuvent être rapidement neutralisés par l'utilisation d'antagonistes spécifiques (58).

Le fentanyl-dropéridol (Innovar Vet) est une substance utile chez le rat et, à des doses de 0,2-0,4 ml/kg en injection intramusculaire, il produit une anesthésie suffisante pour exécuter une chirurgie superficielle. En ce qui concerne les interventions intra-abdominales, le fentanyl-dropéridol, à une dose de 0,2 mg/kg en injection intramusculaire associée à 2,5 mg/kg du relaxant musculaire diazépam en injection intrapéritonéale, donne de bons résultats pour des périodes allant jusqu'à une demi-heure. Pour obtenir une anesthésie plus longue, le fentanyl-dropéridol peut être remplacé par 0,3 mg de fentanyl fluanisone (1, 58, 73).

Le chlorhydrate de kétamine en injection intramusculaire a des effets imprévisibles chez le rat et il produit une faible relaxation musculaire. Cependant, l'association de 90 mg de kétamine à 5-8 mg/kg de xylazine en injection intramusculaire produit une anesthésie efficace et sûre chez les rattes gestantes (85).

### 3. Anesthésiques en inhalation

Ces anesthésiques sont avantageux un ce sens que l'on peut exercer un contrôle plus facile de la profondeur et de la durée de l'anesthésie dont la période de réveil est plus calme et plus rapide.

La méthode de l'entonnoir (cloche) de verre (Bell jar) pour l'induction de l'anesthésie est toujours utilisée pour les anesthésiques volatiles et, en ce qui concerne le maintien de l'anesthésie, on utilise la méthode du cône nasal qui permet d'ajouter de l'anesthésique selon les besoins. Il est probablement certain que l'éther est l'agent anesthésique le plus utilisé malgré ses désavantages comme le fait qu'il cause une salivation excessive et de l'irritation des muqueuses respiratoires. Sa popularité peut être probablement attribuée à la tradition, à son coût peu élevé et à sa facilité d'utilisation avec un minimum d'équipement. Il est bien certain que l'anesthésie à l'éther est facile à contrôler, est relativement sûre, produit une bonne relaxation musculaire pendant les interventions qui durent jusqu'à une heure et elle est suivie par une période de réveil rapide (58, 74). Son usage et ses avantages sont attrayants pour beaucoup de chercheurs qui utilisent occasionnellement la chirurgie et qui ne sont pas eux mêmes des chirurgiens ou des anesthésistes. On doit toujours garder à la mémoire que l'éther est hautement inflammable et explosif et que l'on doit observer des règles strictes pour le conserver lorsqu'un contenant a été ouvert.

Lorsque la chirurgie est une composante majeure d'un protocole de recherche, l'anesthésie par inhalation doit être abordée d'une manière plus précise. A cet effet, le méthoxyflurane est souvent l'agent de choix parce qu'il est sûr et qu'il peut être utilisé à 0,5-1,0 % avec de l'oxygène pour produire une anesthésie prolongée et stable.

Des appareils à anesthésie que l'on utilise chez les petits rongeurs sont disponibles sur le marché ou des vaporisateurs et d'autres équipements semblables peuvent être adaptés aux fins de l'anesthésie (73, 74, 86, 87). L'induction de l'anesthésie avec le méthoxyflurane par la méthode de l'entonnoir (cloche) de verre (Bell jar) utilisée pour l'anesthésie à l'éther s'avère lente et très coûteuse et à cause de cela on ne la recommande pas. Cependant si on utilise la kétamine en injection comme préanesthésique ou un tranquillisant, le méthoxyflurane peut être employé efficacement si on l'administre à l'aide d'un vaporisateur ou d'un masque improvisé (58, 88).

L'halotane est difficile à administrer aux rats et on ne l'utilise généralement pas même s'il a été employé chez les rats et les souris à l'aide d'une unité anesthésique en circuit fermé pour contrôler les niveaux d'anesthésie, extraire le bioxyde de carbone et emprisonner les gas anesthésiques (89).

L'intubation endotrachéale est recommandée si la chirurgie est très longue et lorsque le contrôle de la ventilation mécanique est nécessaire (chirurgies thoraciques et quelques chirurgies abdominales). Cependant, comme l'intubation est difficile à faire chez le rat à cause de son anatomie oropharyngienne (17), on aura besoin de persistance, de pratique et de minutie si on veut exécuter avec succès les diverses procédures connues (75, 90, 91).

## I. EUTHANASIE

Les méthodes et les agents recommandés pour euthanasier les rats d'expérimentation ont été décrits dans le volume 1 du *Manuel* de même que des commentaires sur les principes impliqués dans l'euthanasie humanitaire (44).

Le choix de la méthode/agent à utiliser sera nécessairement influencé par les exigences de chaque protocole expérimental. Les principales conditions (limitations) à cet égard sont les effets possibles sur l'évaluation des paramètres physiologiques/biochimiques et sur les utilisations tissulaires spéciales (v.g., l'effet des barbituriques sur les enzymes microsomiques hépatiques en culture de tissus). Quelques-uns de ces problèmes ont été mentionnés ci-haut à Echantillonnage (Prise de sang) et/ou dans le chapitre sur les souris. Des révisions récentes des effets physiologiques de diverses méthodes d'euthanasie ont conclu que le CO<sub>2</sub> faisait partie des agents les moins dommageables disponibles pour usage général. L'euthanasie avec ce gaz est rapide, apparemment indolore et très acceptable à la condition que le contenant (chambre) soit préalablement rempli de CO<sub>2</sub> (73, 92).

## J. SOINS MÉDICAUX ET MALADIES

### 1. Généraux

Au cours de la première moitié du vingtième siècle, les élevages de rats d'expérimentation ont été fréquemment victimes de maladies cliniques d'origine bactérienne ou parasitaire. A la suite de la sélection, de l'amélioration des systèmes d'élevage et des programmes d'évaluation efficaces de la santé, la nature des problèmes de santé des rats d'expérimentation a changé considérablement depuis les trente dernières années. Les maladies bactériennes et les problèmes majeurs d'origine parasitaire sont maintenant rares dans les colonies de rats. De nos jours, la menace provient des infections subcliniques impliquant surtout des virus et des mycoplasmes. Les défis se situent au niveau de leur détection et leur élimination.

Un des aspects non moins importants des soins de santé des rongeurs d'expérimentation est celui de l'évaluation de la portée des infections latentes sur les mesures requises de plus en plus précises et exigeantes des données biochimiques. Probablement que des modifications dans le spectre des maladies des rats d'expérimentation continueront de se manifester en réponse aux variations dans les exigences génétiques et environnementales de la recherche biomédicale et comportementale. Le rôle de la médecine des animaux d'expérimentation semblerait, par conséquent, impliquer de plus en plus le développement d'une meilleure compréhension non seulement du rôle des microorganismes dans de telles modifications mais aussi de celui des facteurs environnementaux et génétiques.

Actuellement, les principes de base des soins médicaux des rats d'expérimentation reposent très fortement sur l'utilisation et l'établissement de divers niveaux de barrières pour les rats «sains» («clean» rats) qui sont les descendants indemnes d'organismes pathogènes spécifiques de parents nés dans des isolateurs. Les problèmes sont ceux qui concernent l'efficacité des diverses barrières et la valeur des besoins par rapport au coût à la lumière des objectifs de la recherche. Il est clair que l'efficacité de la barrière se reflètera directement dans celle du contrôle des maladies même si les soins médicaux dans leur ensemble impliquent de toute évidence beaucoup d'autres facteurs contrôlables (v.g., nutrition, entretien, etc.) qui seront

fonctionnels dans des conditions conventionnelles aussi bien que dans des conditions de barrières.

On peut consulter plusieurs chapitres qui traitent de divers aspects des soins médicaux et des maladies du rat dans *The Laboratory Rat, Volume I, Biology and Diseases* (4). De plus, d'autres monographies publiées récemment sur les maladies des rongeurs d'expérimentation (1, 93), devraient être consultées afin de compléter la brève liste annotée ci-dessous de maladies du rat. Nous avons omis d'inclure les traitements des maladies infectieuses parce qu'ils sont rarement justifiés dans une colonie de rats. Les seules approches applicables pour contrôler la contagion sont soit l'élimination des animaux suivie d'un programme de prévention ou soit l'usage de conditions de barrières.

## 2. Maladies infectieuses

a. **Mycoplasmoses:** La mycoplasmoses respiratoire murine (MRM) est le vocable le plus approprié et spécifique qui a été retenu pour décrire les maladies respiratoires chroniques (MRC) (94). *Mycoplasma pulmonis* est l'organisme qui joue le rôle le plus important dans les infections respiratoires chroniques chez le rat même si d'autres organismes bactériens et viraux peuvent être quelquefois impliqués dans ces infections. Le syndrome se manifeste par divers signes qui peuvent apparaître seuls ou en groupes. Quelques-uns de ces signes ont été identifiés et décrits comme des affections uniques se manifestant sous forme de:

- i. Otite moyenne et/ou interne qui se manifeste par des torsions caractéristiques du rat lorsqu'on le soulève par la queue.
- ii. Rhinite avec éternuement et présence de sécrétions sanguinolentes desséchées au pourtour des narines.
- iii. Pneumonie accompagnée de respiration laborieuse et de débilité progressive.

*M. pulmonis* peut aussi causer une infection dans le tractus génital particulièrement celui de la femelle. Lorsqu'on retrouve cette forme de mycoplasmoses dans une colonie d'élevage, il se peut qu'elle soit une cause majeure de la diminution de la fertilité qui se reflète dans la grosseur des portées ou même une cause d'infertilité complète (95). Heureusement, depuis quelques années, la MRM a presque complètement disparu dans la plupart des grosses colonies d'élevage. Cependant, ce fait ne devrait pas conduire à la suffisance car *M. pulmonis* est encore présent dans plusieurs colonies de rat et un contrôle régulier de cette mycoplasma et de plusieurs virus est une précaution essentielle qu'il faut prendre dans les colonies d'élevage de rats que l'on dit «sains».

b. **Infections bactériennes:** On rencontre rarement de nos jours des infections bactériennes cliniques chez les rats. Cependant, des infections légères accompagnées de signes cliniques apparaissent occasionnellement et des infections latentes dans des conditions de stress peuvent évoluer vers des maladies cliniques.

*Streptobacillus moniliformis* peut être présent dans le nasopharynx de rats apparemment en santé et il peut être la cause d'infection des morsures (de la main habituellement) que ces animaux peuvent infliger aux personnes qui les manipulent. Il s'ensuit une infection systémique grave par envahissement de la

circulation sanguine par *S. moniliformis* que l'on dénomme la Fièvre de la morsue de rat (Rat-Bite Fever) (96).

*Corynebacterium Kutscheri* et *Streptococcus pneumoniae* sont les bactéries responsables de la pseudotuberculose et de la pneumonie pneumococcique respectivement. Ces deux infections sont habituellement présentes à l'état latent mais elles peuvent se manifester à la suite d'un stress ou d'une complication par d'autres agents pathogènes comme *M. pulmonis* dans la mycoplasmosse respiratoire murine.

*Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie omni-présente dans les colonies de rats conventionnelles mais elle n'est normalement pas pathogène. Elle serait apparemment maintenue en équilibre par les autres bactéries de la flore normalement présentes dans l'intestin du rat et à cause de cela des infections dans les colonies à l'abri de barrières peuvent être particulièrement sérieuses (97).

*Leptospira* spp. qui infecte les rats provoque seulement une bactériémie transitoire. Cependant, cette bactérie habite le rein et elle est éliminée par l'urine. Treize sérotypes de leptospires ont été identifiés chez le rat et au moins quelques-uns d'entre eux peuvent causer la leptospirose chez l'homme (98). Ce fait confirme la nécessité de se laver les mains après avoir manipulé des rats et de ne pas fumer ou manger dans l'animalerie.

*Salmonella* spp. ne sont généralement pas un problème chez le rat depuis quelques années et particulièrement dans les colonies à l'abri de barrières. Cependant, ces organismes sont toujours présents chez les rats sauvages et d'autres rongeurs. Les infections sont la plupart du temps à l'état latent tant chez les populations sauvages que domestiques et elles se manifestent cliniquement à la suite de conditions de stress. La nécessité d'exercer une surveillance adéquate est d'autant plus de rigueur depuis qu'une épidémie à *S. enteritidis* d'origine latente s'est déclarée dans une colonie commerciale à l'abri de barrière et qu'on a dû euthanasier les 35 000 rats (99).

- c. **Infections virales:** La majorité des virus qui infectent naturellement les rats causent des infections latentes ou «silencieuses». Leur présence dans les colonies de rats cliniquement en bonne santé peut seulement être détectée par l'évaluation sérologique (lire la discussion sur les infections latentes d'origine virale dans le chapitre sur les souris). Les virus faisant partie des trois groupes de virus qui sont spécialement répandus dans les colonies de rats sont brièvement décrits dans les catégories suivantes:
- i. Parvovirus: Ces virus ADN sont habituellement latents mais ils peuvent causer des lésions hépatiques vasculaires et neurologiques dans des conditions d'immuno-suppression (100). Le parvovirus du rat a été identifié à des tumeurs et récemment on a décrit l'apparition spontanée d'un syndrome hémorragique parvoviral chez le rat (101).
  - ii. Coronavirus: Deux coronavirus ARN antigéniquement apparentés ont été isolés chez le rat causant deux maladies distinctes dont une, la sialodacryoadénite (SDA), est répandue et hautement contagieuse bien qu'elle peut être aussi légère et transitoire. L'infection avec le virus de la SDA conduit à une inflammation des glandes salivaires et lacrymales. Il s'ensuit de

la photophobie, des lésions oculaires, une protubérance des globes oculaires et d'une hypersécrétion de larmes de couleur porphyrinique (rouge) causée par l'infection des glandes de Harder, tous ces signes disparaissant habituellement une à deux semaines après le début de l'infection (102). Si la réaction inflammatoire implique les glandes salivaires, elle peut conduire à un œdème dans la région cervicale. On a déjà signalé une épizootie subclinique de SDA (103). L'infection du rat à coronavirus (RCV) est une entité reliée mais distincte qui est d'abord pneumotropique avec peu ou pas de manifestations de sialoadénite. Les infections causées par ces virus peuvent être mortelles pour les rats nouveaux-nés mais elles demeurent presque sous forme subclinique chez les animaux âgés de plus d'une semaine (100).

- iii. Le virus Sendai (virus de la parainfluenza) cause une pneumonie chez le rat et elle est souvent accompagnée d'infections intercurrentes avec le virus de la pneumonie de la souris (VPS) et/ou avec *Mycoplasma pulmonis* de la mycoplasmosse respiratoire murine (MRM).

Des infections spontanées et expérimentales avec le virus Sendai seul se manifestent par des signes cliniques mineurs et elles sont peu sévères (104, 100).

### 3. Maladies mycotiques et parasitaires

- a. **Dermatomycose:** La teigne (ringworm) se rencontre moins fréquemment chez le rat que chez d'autres rongeurs (souris, cochon d'Inde). L'espèce de fungus est probablement toujours une forme ou une autre de *Trichophyton mentagrophytes* polymorphique. La forme asymptomatique de la maladie présente plus fréquemment qu'on le réalise (ceci est particulièrement vrai pour le cas des colonies de souris) et sa présence peut très souvent passer inaperçue jusqu'au moment où une personne susceptible attrape l'infection. Le traitement au griséofulvin dans la nourriture ou dans l'eau de boisson donne quelquefois de bons résultats mais l'approche recommandée dans la plupart des cas est d'euthanasier immédiatement les animaux malades et de désinfecter complètement tout ce qui est venu en contact avec eux avant d'introduire de nouveaux animaux sains (97).
- b. **Parasites:** Bien que le rat peut être porteur d'un très grand nombre d'ecto et d'endoparasites différents, il est cependant rare qu'aucun d'eux posent des problèmes cliniques dans les colonies de rats d'expérimentation bien entretenues. Théoriquement, toutes les espèces de parasites devraient être complètement absentes dans les colonies à l'abri de barrières. En pratique, cependant, il arrive qu'occasionnellement une ou plusieurs espèces de parasites peuvent être introduites par des animaux provenant d'élevages conventionnels ou par de la nourriture et/ou des litières contaminées; voici une liste de parasites les plus communément rencontrés:
  - i. *Syphacia* spp. sont les nématodes les plus fréquemment rencontrés chez les souris et les rats. Ces petits oxyures sont omniprésents et on les retrouve habituellement dans les intestins d'animaux cliniquement normaux. Ces parasites se transmettent d'une espèce de rongeurs à une autre, possèdent un cycle de vie direct et court et si les oxyuroses sont suffisamment massives, elles peuvent influencer les valeurs hématologiques et fausser certaines autres données dans des recherches behavioristes et nutritionnelles

(105). La présence de ce parasite peut être décelée facilement par l'examen microscopique de ses oeufs qui se déposent sur un papier cellophane transparent à la suite d'une empreinte anale. Une fois que ces infestations sont installées, il est très difficile de les contrôler. A ce sujet, les méthodes de contrôle doivent inclure la stérilisation de la litière, une campagne rigoureuse contre l'introduction de rongeurs de l'extérieur, l'utilisation de couvercles filtrants et la désinfection de l'équipement et de tous les conduits (1).

- ii. *Hymenolepis* spp. sont des tenias nains et on les retrouve chez toutes les espèces de rongeurs. Les espèces communes du rat sont *H. diminuta* et *H. nana* lesquelles sont des cestodes qui peuvent infester l'homme et d'autres primates. *H. nana* représente le risque zoonotique le plus sérieux et il est capable d'un cycle de vie direct. Ces parasites se transmettent aux et entre les rongeurs par de la litière contaminée et par les insectes porteurs d'oeufs d'un hôte à l'autre (1, 106). *Cysticercus fasciolaris* est la forme larvaire d'un autre ténia adulte, *Taenia taeniaeformis*, que l'on rencontre occasionnellement chez les rats d'expérimentation et dont l'infestation se produit par la litière qui a été contaminée par les excréments de chat (1, 106).

#### 4. Problèmes de santé divers

- a. **Maladies néoplasiques:** Bien que des tumeurs spontanées peuvent apparaître chez la plupart des souches de rats, particulièrement chez les animaux âgés, on possède peu d'informations sur l'incidence de ces maladies chez les différentes souches de rats. Comme chez la souris, les tumeurs mammaires sont ici les plus fréquentes, l'incidence atteignant 50 % chez certaines souches consanguines. Les maladies néoplasiques du rat ont récemment fait l'objet d'une révision des facteurs qui influencent l'oncogénèse et le type/incidence de tumeurs chez diverses souches de rats (107).
- b. **Alopécie:** La caractéristique comportementale appelée «tricophagie» (barbering) a été décrite dans le chapitre sur les souris. Ce trait dominant se rencontre aussi occasionnellement chez les rats vivant en groupes et il doit être différencié de l'alopécie qui, habituellement est le résultat de causes beaucoup plus sérieuses (108, 109).
- c. **Allergie:** Une enquête menée sur les problèmes que subissent les personnes qui cotoient les rats d'expérimentation aux États-Unis et au Canada a révélé que 23 des 42 institutions qui ont répondu au questionnaire ont mentionné que des personnes ont effectivement manifesté des réactions allergiques aux rats. Les individus les plus sensibles avaient une histoire personnelle ou familiale d'allergies (98). Dans les situations d'emploi qui impliquent une sensibilisation aux produits d'excrétion et de rejet cutané et pileux des animaux d'expérimentation, la source d'allergies la plus fréquente semble être le rat (110).

## RÉFÉRENCES

1. HARKNESS, J.E., WAGNER, J.E. 1983. The Biology and Medicine of Rabbits and Rodents (2nd Ed.). Lea & Febiger, Philadelphia, PA.
2. ROBINSON, R. 1979. Taxonomy and Genetics. In: The Laboratory Rat, Vol. I, Biology and Diseases (H.J. Baker, J.R. Lindsey, S.H. Weisbroth, eds.). Academic Press, New York, NY. pp. 37-54.
3. FESTING, M.F.W. 1979. Suitability of the Rat for Different Investigations. In: Inbred and Genetically Defined Strains of Laboratory Animals, Part I, Mouse and Rat (P.L. Altman, D.D. Katz, eds.). Fed. Am. Soc. Exper. Biol. Bethesda, MD. pp. 237-238.
4. LINDSAY, J.R. 1979. Historical Foundations. In: The Laboratory Rat, Vol. I, Biology and Diseases (H.J. Baker, J.R. Lindsey, S.H. Weisbroth, eds.). Academic Press, New York, NY. pp. 2-36.
5. BAKER, H.J., LINDSEY, J.R., WEISBROTH, S.H. (eds.). 1980. The Laboratory Rat, Vol. II, Research Applications. Academic Press, New York, NY.
6. NAVIA, J.M., NARKATES, A.J. 1980. Dental Research. In: The Laboratory Rat, Vol. II, Research Applications (H.J. Baker, J.R. Lindsey, J.R. Weisbroth, eds.). Academic Press, New York, NY. pp. 59-74.
7. NATIONAL RESEARCH COUNCIL (U.S.). Committee on Care and Use of Spontaneously Hypertensive (SHR) Rats. 1976. Spontaneously Hypertensive (SHR) rats: Guidelines for breeding, care and use. ILAR News **19**, G1-20.
8. MCCLEARN, G.E., DEITRICH, R.A., ERWIN, V.G. (eds.). 1981. Development of Animal Models as Pharmacogenetic Tools. Natl. Instit. Alcohol Abuse and Alcoholism, Rockville, MD. Research Monograph #6.
9. SOKOL, H.W., VALTIN, H. (eds.). 1982. The Brattleboro Rat. Proc. Int. Symposium on the Brattleboro Rat Dartmouth Medical School, September 4-7, 1981. New York Acad. Sci., New York, NY, Vol. 394.
10. JACKSON, R.A., BUSE, J.B., RIFAI, R. *et al.* 1984. Two genes required for diabetes in BB rats: Evidence from cyclical intercrosses and backcrosses. J. Exp. Med. (in press).
11. DEB, S., MARTIN, R.J., HERSHBERGER, T.V. 1976. Maintenance requirements and energy efficiency of lean and obese Zucker rats. J. Nutr. **106**, 191.
12. SIEGMUND, O.H., FRASER, C.M. (eds.). 1979. Diseases of Mice and Rats. In: The Merck Veterinary Manual (5th Ed.). Merck and Co. Inc., Rahway, NJ. pp. 1188-1197.
13. SUTER, P., LUETKEMEIER, H., ZAKOVA, N. *et al.* 1979. Lifespan studies on male and female mice and rats under SPF-laboratory conditions. Arch. Toxicol. Supp. **11**, 403.
14. CAMERON, T.P., LATTUADA, C.P., KORNREICH, M.R., TARONE, R.E. 1982. Longevity and reproductive comparisons for male ACI and Sprague-Dawley rat aging colonies. Lab. Anim. Sci. **32**, 495.

15. ALEXANDER, G. 1979. Cold Thermogenesis. In: *Int Rev. Physiol. Environmental Physiology III*, Vol. 20 (D. Robertshaw, ed.). University Park Press, Baltimore, MD. pp. 43-155.
16. BIVIN, W.S., CRAWFORD, M.P., BREWER, N.R. 1979. Morphophysiology. In: *The Laboratory Rat, Vol. I, Biology and Diseases* (H.J. Baker, J.R. Lindsey, S.H. Weisbroth, eds.). Academic Press, New York, NY. pp. 73-103.
17. OLDS, R.J., OLDS, J.R. 1979. *A Color Atlas of the Rat, Dissection Guide*. John Wiley & Sons, New York, NY.
18. WINDHAGER, E.E. 1968. *Micropuncture Techniques and Nephron Function*. Appleton - Century-Croft. New York, NY.
19. KUNSTYR, I., KUPPER, W., WEISSER, H., NAUMANN, S., MESSOW, C. 1982. Urethral plug - a new secondary male sex characteristic in rats and other rodents. *Lab. Anim.* **16**, 151.
20. RINGLER, D.H., DABICH, L. 1979. Hematology and Clinical Biochemistry. In: *The Laboratory Rat, Vol. I, Biology and Diseases* (H.J. Baker, J.R. Lindsay, S.H. Weisbroth, eds.). Academic Press, New York, NY. pp. 105-121.
21. BARNETT, S.A. 1963. *The Rat: A Study in Behaviour*. Aldine Publ. Co., Chicago, IL.
22. EHRENSREUND, D. 1968. Use of Rodents in Behavioral Research. In: *Methods of Animal Experimentation, Vol. 3* (W.I. Gay, ed.). Academic Press, New York, NY. pp. 1-25.
23. PELLEGRINO, L.J. et al. 1979. *A Stereotaxic Atlas of the Rat Brain (2nd Ed.)*. Plenum Press, New York, NY.
24. INSTITUTE FOR LABORATORY ANIMAL RESOURCES. 1979. *Animals for Research. A Directory of Sources (10th Ed.)*. National Research Council (U.S.), National Academy of Sciences, Washington, DC.
25. CONSEIL CANADIEN DE PROTECTION DES ANIMAUX. 1985. *Research Animals in Canada*. Conseil canadien de protection des animaux, Ottawa, Ont.
26. ALTMAN, P.L, KATZ, D.D. (eds.). 1979. *Inbred and Genetically Defined Strains of Laboratory Animals, Part I, Mice and Rats*. Fed. Amer. Soc. Exptl. Biol., Bethesda, MD.
27. FESTING, M.F.W. 1979. Inbred Strains. In: *The Laboratory Rat, Vol. I, Biology and Diseases* (H.J. Baker, J.R. Lindsay, S.H. Weisbroth, eds.). Academic Press, New York, NY. pp. 55-73.
28. NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH. 1981. *NIH Rodents 1980 Catalogue*. Department of Health and Human Services (U.S.), Public Health Services, Bethesda, MD. NIH Publ. No. 81-606.
29. WEISBROTH, S.H., PAGANELLI, R.G., SALVIA, M. 1977. Evaluation of a disposable water system during shipment of laboratory rats and mice. *Lab. Anim. Sci.* **27**, 186.
30. VAN BEKKUM, D.W., BROUWER, A., ZURCHER, C., HEIDT, P.J. 1983. Applicability of solidified water (hydrogel) in laboratory animal care. *Lab. Anim. Sci.* **33**, 295.

31. WALKER, G. 1935. A method for numbering laboratory rats. *Science* **82**, 397.
32. BAKER, H.J., LINDSEY, J.R., WEISBROTH, S.H. 1979. Housing to Control Research Variables. In: *The Laboratory Rat, Vol. I., Biology and Diseases* (H.J. Baker, R.J. Lindsey, S.H. Weisbroth, eds.). Academic Press, New York, NY. pp. 169-192.
33. CLOUGH, G. 1976. The Immediate Environment of the Laboratory Animal. In: *Control of the Animal House Environment Laboratory Animal Handbooks 7* (T. McSheehy, ed.). Laboratory Animals Ltd., London, UK. pp. 77-94.
34. WOODS, J.E. 1980. The animal enclosure - A microenvironment. *Lab. Anim. Sci.* **30**, 407.
35. LANE-PETTER, W. 1976. The Animal House and its Equipment. In: *The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals (5th Ed.)*. Churchill Livingstone, London, UK. pp. 74-94.
36. POLANSKY, M.M., ANDERSON, R.A. 1979. Metal-free housing units for trace element studies in rats. *Lab. Anim. Sci.* **29**, 357.
37. RAYNOR, T.H., STEINHAGEN, W.H., HAMM, T.E., Jr. 1983. Differences in the microenvironment of a polycarbonate caging system: bedding vs raised wire floors. *Lab. Anim.* **17**, 85.
38. GAMBLE, M.R., CLOUGH, G. 1976. Ammonia build-up in animal boxes and its effect on rat tracheal epithelium. *Lab. Anim.* **10**, 93.
39. BRODERSON, J.R., LINDSEY, J.R., CRAWFORD, J.E. 1976. The role of environmental ammonia in respiratory mycoplasmosis of rats. *Am. J. Pathol.* **85**, 115.
40. SCHAERDEL, A.D., WHITE, W.J., LANG, C.M., DVORCHIK, B.H., BOHNER, K. 1983. Localized and systemic effects of environmental ammonia in rats. *Lab. Anim. Sci.* **33**, 40.
41. KRAFT, L.M. 1980. The manufacture, shipping and receiving and quality control of rodent bedding materials. *Lab. Anim. Sci.* **30**, 366.
42. WIRTH, H. 1983. Criteria for the evaluation of laboratory animal bedding. *Lab. Anim.* **17**, 81.
43. WEIHE, W.H. 1976. The Effects on Animals of Changes in Ambient Temperature and Humidity. In: *Control of the Animal House Environment Laboratory Animal Handbooks 7* (T. McSheehy, ed.). Laboratory Animals Ltd., London, UK. pp. 41-50.
44. CONSEIL CANADIEN DE PROTECTION DE ANIMAUX. 1980. Manuel sur le soin et l'utilisation des animaux d'expérimentation, Vol. I. Conseil canadien de protection de animaux, Ottawa, Ont.
45. WEIHE, W.H. 1971. The Significance of the Physical Environment for the Health and State of Adaptation of Laboratory Animals. In: *Defining the Laboratory Animal*. ILAR, NRC (U.S.), Washington, DC. pp. 353-378.

46. NATIONAL RESEARCH COUNCIL (U.S.) Committee on Rodents. 1977. Laboratory animal management, Rodents. *ILAR News* **20**, L1-15.
47. FLYNN, R.J. 1967. Note on Ringtail in Rats. In: *Husbandry of Laboratory Animals* (M.L. Conalty, ed.). Academic Press, New York, NY. pp. 285-288.
48. YAMAUCHI, C., FUJITA, S., OBARA, T., UEDA, T. 1981. Effects of room temperature on reproduction, body and organ weights, food and water intake, and hematology in rats. *Lab. Anim. Sci.* **31**, 251.
49. BASKERVILLE, M., SEAMER, J.H. 1982. Use of portable filter units to control the animal house environment. *Lab. Anim.* **16**, 356.
50. THIGPEN, J.E., ROSS, P.W. 1983. Viral cross contamination of rats maintained in a fabric-walled mass airflow system. *Lab. Anim. Sci.* **33**, 446.
51. ANVER, M.R., COHEN, B.J. 1979. Lesions Associated with Aging. In: *The Laboratory Rat Vol. I, Biology and Diseases* (H.J. Baker, J.R. Lindsay, S.H. Weisbroth, eds.). Academic Press, New York, NY. pp. 378-399.
52. NAYFIELD, K.C., BESCH, E.L. 1981. Comparative responses of rabbits and rats to elevated noise. *Lab. Anim. Sci.* **31**, 386.
53. NATIONAL RESEARCH COUNCIL (U.S.). 1978. *Nutrient Requirements of Laboratory Animals*, No. 10, (3rd Revised Ed.). National Academy of Sciences, Washington, DC.
54. ROGERS, H.E. 1979. Nutrition. In: *The Laboratory Rat, Vol. I, Biology and Diseases* (H.J. Baker, J.R. Lindsay, S.H. Weisbroth, eds.). Academic Press, New York, NY. pp. 123-152.
55. FORD, D.J., WARD, R.J. 1983. The effect on rats of practical diets containing different protein and energy levels. *Lab. Anim.* **17**, 330.
56. NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES. Committee on Laboratory Animal Diets. 1978. Control of diets in laboratory animal experimentation. *ILAR News* **21**, A1-12.
57. NEALE, R.J. 1982. Coprophagy in iron-deficient rats. *Lab. Anim.* **16**, 204.
58. WAYNFORTH, H.B. 1980. *Experimental and Surgical Technique in the Rat*. Academic Press, London, UK. pp. 84.
59. HESS, H.H., NEWSOME, D.A., KNAPKA, J.J., BIERI, J.G. 1981. Effects of sunflower seed supplements on reproduction and growth of RCS rats with hereditary retinal dystrophy. *Lab. Anim. Sci.* **31**, 482.
60. ROGERS, A.E., NEWBERNE, P.M. 1975. Dietary effects on chemical carcinogenesis in animal models for colon and liver tumours. *Cancer Res.* **35**, 3427.
61. CARROLL, K.K. 1975. Experimental evidence of dieting factors and hormone-dependent cancers. *Cancer Res.* **35**, 3374.
62. CLAPP, M.J.L., BRADBROOK, C. 1982. Growth and longevity of rats fed an agar-bound diet. *Lab. Anim.* **16**, 138.

63. SANSONE, E.B., FOX, J.G. 1977. Potential chemical contamination in animal feeding studies: Evaluation of wire and solid bottom caging systems and gelled feed. *Lab. Anim. Sci.* **27**, 457.
64. YOUNG, W.C., BOLING, J.L, BLANDAU, R.J. 1941. The vaginal smear picture, sexual receptivity and time of ovulation in the albino rat. *Anat. Rec.* **80**, 37.
65. BERTHOLET, J.Y. 1981. Mating method to produce accurate timed pregnancies in rats. *Lab. Anim. Sci.* **31**, 180.
66. LANE-PETTER, W., LANE-PETTER, M.E. 1971. Toward Standardized Laboratory Rodents. The Manipulation of Rat and Mouse Litters. In: *Defining the Laboratory Animal*. National Academy of Sciences, Washington, DC. pp. 3-13.
67. SHARPE, R.M., MORRIS, A., WYATT, A.C., 1973. The effect of the sex of littermates on the subsequent behaviour and breeding performance of cross-fostered rats. *Lab. Anim.* **7**, 51.
68. DAVIS, D.R., YEARY, R.A. 1979. Impaired fertility in the jaundiced female (Gunn) rat *Lab. Anim. Sci.* **29**, 739.
69. LANE-PETTER, W. 1972. The Laboratory Rat. In: *The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals* (4th 95 Ed.). Churchill Livingstone, London, UK. pp. 204-211.
70. BAKER, D.E.J. 1979. Reproduction and Breeding. In: *The Laboratory Rat. Vol. I, Biology and Diseases* (H.J. Baker, J.R. Lindsey, S.H. Weisbroth, eds.). Academic Press, New York, NY. pp. 154-168.
71. LANE-PETTER, W., PEARSON, A.E.G. 1971. *The Laboratory Animal. Principles and Practice*. Academic Press, New York, NY.
72. FARRIS, S.J., GRIFFITH, J.Q. (eds.). 1963. *The Rat in Laboratory Investigation* (2nd Ed.). Hafner Press, New York, NY.
73. KRAUS, A.L. 1980. Research Methodology. In: *The Laboratory Rat. Vol. II, Research Applications* (H.J. Baker, J.R. Lindsey, S.H. Weisbroth, eds.). Academic Press, New York, NY. pp. 1-4.
74. GREEN, C.J. 1979. Animal Anesthesia. *Laboratory Animal Handbooks* 8. Laboratory Animals Ltd., London, UK. pp. 156-160.
75. PETTY, C. 1982. *Research Techniques in the Rat*. Charles C. Thomas, Springfield, IL.
76. GARTNER, K., BUTTNER, D., DOHLER, R., FRIEDEL, R., LINDENA, J., TRAUTSCHOLD, I. 1980. Stress response of rats to, handling and experimental procedures. *Lab. Anim.* **14**, 267.
77. CARDY, R.H., WARNER, J.W. 1979. Effect of sequential bleeding on body weight gain in rats. *Lab. Anim. Sci.* **29**, 179.
78. TIMM, K.I. 1979. Orbital venous anatomy of the rat. *Lab. Anim. Sci.* **29**, 636.

79. MCGEE, M.A., MARONPLOT, R.R. 1979. Harderian gland dacryo-adenitis in rats resulting from orbital bleeding. *Lab. Anim. Sci.* **29**, 639.
80. RHODES, M.L., PATTERSON, C.E. 1979. Chronic intravenous infusion in the rat a nonsurgical approach. *Lab. Anim. Sci.* **29**, 82.
81. ZAMMIT, M., TOLEDO-PEREYRA, L.H., MALCOLM, S., KONDE, W.N., 1979. Long-term cranial mesenteric vein cannulation in the rat. *Lab. Anim. Sci.* **29**, 364.
82. BLACK, W.D., CLAXTON, M.J. 1979. A simple, reliable and inexpensive method for the collection of rat urine. *Lab. Anim. Sci.* **29**, 253.
83. SMYTH, R.E. 1979. Fecal cup for collection of feces in male rats. *Lab. Anim. Sci.* **29**, 677.
84. FISHER, A.V., STAGE, I., PHILIPSEN, H.P. 1982. Use of etorphine-acepromazine and diprenorphine in reversible neuroleptanalgesia of rats. *Lab. Anim.* **16**, 109.
85. STICKROD, G. 1979. Ketamine/xylazine anesthesia in the pregnant rat. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **175**, 952.
86. NORRIS, M.L., MILES, P. 1982. An improved, portable machine designed to induce and maintain surgical anesthesia in small laboratory rodents. *Lab. Anim.* **16**, 227.
87. COOKE, W.J. 1976. Small inexpensive anesthetic apparatus for rats. *J. Appl. Physiol.* **41**, 429.
88. LEVY, D.E., ZWIES, A., DUFFY, T.E. 1980. A mask for delivery of inhalation gases to, small laboratory animals. *Lab. Anim. Sci.* **30**, 868.
89. MULDER, J.B., HAUSER, J.J. 1984. A closed anesthetic system for small laboratory animals. *Lab. Anim. Sci.* **34**, 77.
90. THET, L.A. 1983. A simple method of intubating rats under direct vision. *Lab. Anim. Sci.* **33**, 368.
91. ALPERT, M., GOLDSTEIN, D., TRINER, L. 1982. Technique of endotracheal intubation in rats. *Lab. Anim. Sci.* **32**, 78.
92. FELDMAN, D.B., GUPTA, B.N. 1976. Histopathologic changes in laboratory animals resulting from various methods of euthanasia. *Lab. Anim. Sci.* **26**, 218.
93. RUSSELL, R.J., JOHNSON, D.K., STUNKARD, J.A. 1981. *A Guide to Diagnosis, Treatment and Husbandry of Pet Rabbits and Rodents.* Veterinary Medicine Publishing Co., Edwardsville, KY.
94. CASSELL, G.H., LINDSEY, J.R., BAKER, H.J., DAVIS, J.K. 1979. Mycoplasmal and Rickettsial Diseases. In: *The Laboratory Rat, Vol. I, Biology and Diseases* (H.J. Baker, J.R. Lindsey, S.H. Weisbroth, eds.). Academic Press, New York, NY. pp. 243-269.
95. CASSELL, G.H., HILL, A. 1979. Murine and Other Small Animal Mycoplasmas. In: *The Mycoplasmas, Vol. 2* (M.F. Barile, *et al.*, eds.). Academic Press, New York, NY. pp. 235-273.

96. ANDERSON, LC., LEARY, S.L., MANNING, P.J. 1983. Rat-Bite Fever in animal research laboratory personnel. *Lab. Anim. Sci.* **33**, 292.
97. WEISBROTH, S.H. 1979. Bacterial and Mycotic Diseases. In: *The Laboratory Rat, Vol. I, Biology and Diseases* (H.J. Baker, J.R. Lindsay, S.H. Weisbroth, eds.). Academic Press, New York, NY. pp. 193-241.
98. GELLER, E.H. 1979. Health Hazards for Man. In: *The Laboratory Rat, Vol. I, Biology and Diseases* (H.J. Baker, J.R. Lindsey, S.H. Weisbroth, eds.). Academic Press, New York, NY. pp. 402-410.
99. STEFFEN, E.K., WAGNER, J.E. 1983. *Salmonella enteritidis* serotype Amsterdam in a commercial rat colony. *Lab. Anim. Sci.* **33**, 454.
100. JACOBY, R.O., BHATT, P.N., JONAS, A.M. 1979. Viral Diseases. In: *The Laboratory Rat, Vol. I, Biology and Diseases* (H.J. Baker, J.R. Lindsey, S.H. Weisbroth, eds.). Academic Press, New York, NY. pp. 272-306.
101. COLEMAN, G.L., JACOBY, R.O., BHATT, A.L. *et al.* 1983. Naturally occurring lethal parvovirus infection of juvenile and young adult rats. *Vet. Pathol.* **20**, 49.
102. WEISBROTH, S.H., PERESS, N. 1977. Ophthalmic lesions and dacryoadenitis: a naturally occurring aspect of sialodacryoadenitis virus infection of the laboratory rat. *Lab. Anim. Sci.* **27**, 466.
103. EISENBRANDT, D.L., HUBBARD, G.B., SCHMIDT, R.E. 1982. A subclinical epizootic of sialodacryoadenitis in rats. *Lab. Anim. Sci.* **32**, 655.
104. CASTLEMAN, W.L. 1983. Respiratory tract lesions in weanling outbred rats infected with Sendai virus. *Am. J. Vet. Res.* **44**, 1024.
105. KELLOGG, H.S., WAGNER, J.E. 1982. Experimental transmission of *Syphacia obvelata* among mice, rats, hamsters and gerbils. *Lab. Anim. Sci.* **32**, 500.
106. HSU, C.-K. 1979. Parasitic Diseases. In: *The Laboratory Rat, Vol. I, Biology and Diseases* (H.J. Baker, J.R. Lindsey, S.H. Weisbroth, eds.). Academic Press, New York, NY. pp. 307-331.
107. ALTMAN, N.H., GOODMAN, D.G. 1979. Neoplastic Diseases. In: *The Laboratory Rat, Vol. I, Biology and Diseases* (H.J. Baker, J.R. Lindsey, S.H. Weisbroth, eds.). Academic Press, New York, NY. pp. 333-376.
108. BRESNAHAN, J.F., KITCHELL, B.B., WILDMAN, M.F. 1983. Facial hair barbering in rats. *Lab. Anim. Sci.* **33**, 290.
109. BEARE-ROGERS, J.L., MCGOWAN, J.E. 1973. Alopecia in rats housed in groups. *Lab. Anim.* **7**, 237.
110. LUTSKY, I., NEUMANN, I. 1975. Laboratory animal dander allergy, 1, An occupational disease. *Ann. Allergy* **35**, 201.