

**VETAGRO SUP  
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON**

Année 2013 - Thèse n°

***MISE EN PLACE DE TRAVAUX PRATIQUES AFIN  
D'ENSEIGNER UNE ANESTHESIE ADAPTEE DANS LES  
FORMATIONS A L'UTILISATION DES ANIMAUX A DES FINS  
SCIENTIFIQUES : EXEMPLE DES RONGEURS***

**THESE**

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I  
(Médecine - Pharmacie)

et soutenue publiquement le 25 octobre 2013  
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

*Méloé TRONCHE*  
Née le 22/08/1988  
à Périgueux



VetAgro Sup





Liste des enseignants du Campus Vétérinaire de Lyon

Civilité	Nom	Prénom	Unités pédagogiques	Grade
M.	ALOGNINOUIWA	Théodore	Unité pédagogique Pathologie du bétail	Professeur
M.	ALVES-DE-OLIVEIRA	Laurent	Unité pédagogique Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	ARCANGIOLI	Marie-Anne	Unité pédagogique Pathologie du bétail	Maître de conférences
M.	ARTOIS	Marc	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
M.	BARTHELEMY	Anthony	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences Contractuel
Mme	BECKER	Claire	Unité pédagogique Pathologie du bétail	Maître de conférences
M.	BELLI	Patrick	Unité pédagogique Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Maître de conférences Contractuel
Mme	BELLUCO	Sara	Unité pédagogique Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Maître de conférences
Mme	BENAMOU-SMITH	Agnès	Unité pédagogique Equine	Maître de conférences
M.	BENOIT	Etienne	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	BERRY	Philippe	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Professeur
Mme	BONNET-GARIN	Jeanne-Marie	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Professeur
Mme	BOULOCHER	Caroline	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
M.	BOURDOISEAU	Gilles	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
M.	BOURGOIN	Gilles	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	BRUYERE	Pierre	Unité pédagogique Biotechnologies et pathologie de la reproduction	Maître de conférences Contractuel
M.	BUFF	Samuel	Unité pédagogique Biotechnologies et pathologie de la reproduction	Maître de conférences
M.	BURONFOSSE	Thierry	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Maître de conférences Contractuel
M.	CACHON	Thibaut	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
M.	CADORE	Jean-Luc	Unité pédagogique Pathologie médicale des animaux de compagnie	Maître de conférences
Mme	CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	CAROZZO	Claude	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maître de conférences
M.	CHABANNE	Luc	Unité pédagogique Pathologie médicale des animaux de compagnie	Professeur
Mme	CHALVET-MONFRAY	Karine	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Maître de conférences
M.	COMMUN	Loïc	Unité pédagogique Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	DE BOYER DES ROCHES	Alice	Unité pédagogique Gestion des élevages	Maître de conférences Stagiaire
Mme	DELIGNETTE-MULLER	Marie-Laure	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	DEMONT	Pierre	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
Mme	DESJARDINS PESSON	Isabelle	Unité pédagogique Equine	Maître de conférences Contractuel
Mme	DJELOUADJI	Zorée	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
Mme	ESCRIOU	Catherine	Unité pédagogique Pathologie médicale des animaux de compagnie	Maître de conférences
M.	FAU	Didier	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
Mme	FOURNEL	Corinne	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
M.	FRANCK	Michel	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
M.	FREYBURGER	Ludovic	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	FRIKHA	Mohamed-Ridha	Unité pédagogique Pathologie du bétail	Maître de conférences
M.	GENEVOIS	Jean-Pierre	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
Mme	GILLOT-FROMONT	Emmanuelle	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	GOMTHIER	Alain	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
Mme	GRAIN	Françoise	Unité pédagogique Gestion des élevages	Professeur
M.	GRANCHER	Denis	Unité pédagogique Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	GREZEL	Delphine	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
M.	GUERIN	Pierre	Unité pédagogique Biotechnologies et pathologie de la reproduction	Professeur
Mme	GUERIN-FAUBLEE	Véronique	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences
Mme	HUGONNARD	Marine	Unité pédagogique Pathologie médicale des animaux de compagnie	Maître de conférences
M.	JUNOT	Stéphane	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
M.	KECK	Gérad	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	KODOJO	Angeli	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
Mme	LAABERKI	Maria-Hallima	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Maître de conférences Stagiaire
M.	LACHERETZ	Antoine	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
Mme	LAMBERT	Véronique	Unité pédagogique Gestion des élevages	Maître de conférences
Mme	LE GRAND	Dominique	Unité pédagogique Pathologie du bétail	Maître de conférences
Mme	LEBLOND	Agnès	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Professeur

Liste des enseignants du Campus Vétérinaire de Lyon

Civilité	Nom	Prénom	Unités pédagogiques	Grade
Mme	LEFRANC-POHL	Anne-Cécile	Unité pédagogique Equine	Maitre de conférences
M.	LEPAGE	Olivier	Unité pédagogique Equine	Professeur
Mme	LOUZIER	Vanessa	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Maitre de conférences
M.	MARCHAL	Thierry	Unité pédagogique Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Professeur
Mme	MIALET	Sylvie	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Inspecteur en santé publique vétérinaire (ISPV)
Mme	MICHAUD	Audrey	Unité pédagogique Gestion des élevages	Maitre de conférences
M.	MOUNIER	Luc	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
M.	PEPIN	Michel	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Professeur
M.	PIN	Didier	Unité pédagogique Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Maitre de conférences
Mme	PONCE	Frédérique	Unité pédagogique Pathologie médicale des animaux de compagnie	Maitre de conférences
Mme	PORTIER	Karine	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maitre de conférences
Mme	POUZOT-NEVORET	Céline	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maitre de conférences
Mme	PROUILLAC	Caroline	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maitre de conférences
Mme	REMY	Denise	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
M.	ROGER	Thierry	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
M.	SABATIER	Philippe	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Professeur
M.	SAWAYA	Serge	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maitre de conférences
Mme	SEGARD	Emilie	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maitre de conférences Contractuel
Mme	SERGENTET	Delphine	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Maitre de conférences
Mme	SONET	Juliette	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Maitre de conférences Contractuel
M.	THIEBAULT	Jean-Jacques	Unité pédagogique Biologie fonctionnelle	Maitre de conférences
M.	VIGUIER	Eric	Unité pédagogique Anatomie Chirurgie (ACSAI)	Professeur
Mme	VIRIEUX-WATRELOT	Dorothee	Unité pédagogique Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie	Maitre de conférences Contractuel
M.	ZENNER	Lionel	Unité pédagogique Santé Publique et Vétérinaire	Professeur



## REMERCIEMENTS

**A Monsieur le Professeur Emérite Claude GHARIB,**

*De la Faculté de Médecine de Lyon,*

Pour nous avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse,

Qu'il reçoive ici l'expression de ma gratitude et de mes hommages respectueux.

**A Madame Docteur Delphine GREZEL,**

*Maître de conférences de l'Unité Pédagogique Santé Publique et Vétérinaire*

*Du Campus Vétérinaire de Vetagro-Sup,*

Qui nous fait l'honneur d'encadrer ce travail,

Qu'elle trouve ici l'assurance de notre plus profonde reconnaissance.

**A Monsieur Docteur Stéphane JUNOT,**

*Maître de conférences de l'Unité Pédagogique Anatomie Chirurgie*

*Du Campus Vétérinaire de Vetagro-Sup,*

Qui nous a fait l'honneur de faire partie de notre jury de thèse,

Pour avoir accepté de juger ce travail,

Qu'il trouve ici l'expression de mes remerciements les plus sincères.

<b>REMERCIEMENTS.....</b>	<b>6</b>
<b>LISTES DES ILLUSTRATIONS .....</b>	<b>8</b>
<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>9</b>
<b>PREMIERE PARTIE : L'ANESTHESIE EN EXPERIMENTATION ANIMALE.....</b>	<b>10</b>
1 Importance de l'éthique et du bien-être animal .....	10
2 Principes généraux de l'anesthésie des rongeurs.....	14
3 Choix d'une procédure d'anesthésie de rongeurs .....	34
<b>DEUXIEME PARTIE : ENSEIGNEMENT EN ANESTHESIE A DESTINATION DES EXPERIMENTATEURS : MISE EN PLACE DE TRAVAUX PRATIQUES .....</b>	<b>40</b>
4 Organisation générale des formations en expérimentation animale en France .....	41
5 L'enseignement d'anesthésie dans les formations obligatoires.....	43
6 Mise en place d'un enseignement pratique d'anesthésie des rongeurs .....	47
<b>CONCLUSION .....</b>	<b>73</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>74</b>
<b>ANNEXES .....</b>	<b>80</b>
1 ANNEXE 1 : Avancées de la recherche et expérimentation animale .....	80
2 ANNEXE 2 : Tableaux récapitulatifs des modalités d'analgésie et d'anesthésie chez le rat et la souris (Laboratory animal Anaesthesia, Flecknell et UCSF, IACUC).....	81
3 ANNEXE 3 : Paliers de la douleur (affiche effectuée par le Dr Samuel Vidal, au nom du Comité Régional d'Ethique en Expérimentation Animale Rhône Alpes, 2007) .....	84
4 ANNEXE 4 : Conséquences de l'hypothermie (Franck, 2001) .....	85
5 ANNEXE 5 : Procédure de la séance d'enseignement pratique d'anesthésie des rongeurs (version novembre 2012).....	86
6 ANNEXE 6 : Résultats des séances de TP d'Octobre 2011 et 2012 et Juin 2012 .....	89
7 ANNEXE 7 : Affiche « Bien-être et qualité expérimentale au cours de l'anesthésie des rongeurs : organisation d'un enseignement pratique » (Congrès AFSTAL Marseille Juin 2012, Delphine Grezel, Stéphane Junot et Anne Morales). Photos : Méloé Tronche .....	96
8 ANNEXE 8 : Evaluation et prévention de la douleur (Junot, 2012) .....	97
9 ANNEXE 9 : Proposition de tableau synthétique, Quel anesthésique pour quel geste ? .....	99
10 ANNEXE 10 : TP d'anesthésie sans animaux vivants : Exemple d'exploitation de données par protocole ou par paramètres .....	100

## LISTES DES ILLUSTRATIONS

<i>Figure 1: Objectifs de l'anesthésie (4avet : Association Vétérinaire pour l'Anesthésie et l'Analgesie Animale)</i>	15
<i>Figure 2: Exemple de site universitaire d'informations en expérimentation animale (University of California, San Francisco)</i>	24
<i>Figure 3: Exemples de voies d'administration, IP et SC (NEWCASTLE UNIVERSITY)</i>	27
<i>Figure 4 : Capnographe</i>	31
<i>Figure 5 : Oxygénométrie de pouls</i>	31
<i>Figure 6 : ECG</i>	32
<i>Figure 7 : Mesures de la pression artérielle</i>	33
<i>Figure 8: Utilisation d'une analgésie en fonction du geste chirurgical réalisé (Stokes, Flecknell, Richardson, 2009)</i>	34
<i>Figure 9: Protocoles d'anesthésie décrits dans la littérature (travail personnel)</i>	35
<i>Figure 10: Protocoles anesthésiques (Sondage mai 2010- Anilab)</i>	36
<i>Figure 11: Analgésie (Sondage mai 2010-Anilab)</i>	36
<i>Figure 12: Facteurs influençant les expériences (CCAC)</i>	38
<i>Figure 13: Formulaire de suivi du protocole d'anesthésie</i>	55
<i>Figure 14 : Identification des souris par coloration du pelage</i>	56
<i>Figure 15 : Anesthésie à l'isoflurane</i>	56
<i>Figure 16 : Injection ID sur zone opératoire</i>	56
<i>Figure 17 : Illustration des résultats obtenus avec tapis chauffant (Annexe 8)</i>	61
<i>Figure 18 : Illustration des Résultats obtenus sans tapis chauffant (Annexe 8)</i>	62
<i>Figure 19 : Questionnaire d'évaluation</i>	66
<i>Figure 20 : Niveau de formation et de responsabilité des stagiaires</i>	67
<i>Figure 21 : Tableau de répartition des protocoles entre les stagiaires</i>	68
<i>Figure 22 : Evaluation de la profondeur de l'anesthésie</i>	69
<i>Tableau I: Synthèse de la réglementation applicable à la protection des animaux de laboratoire</i>	12
<i>Tableau II: Classement de la sévérité des protocoles (Office vétérinaire Fédéral)</i>	13
<i>Tableau III: Les Etapes de l'anesthésie générale : dépression du SNC et stades de Guedel (LUMB et JONES', 2007)</i>	15
<i>Tableau IV : Tableau comparatif des 8 protocoles utilisés pour la vasectomie (Arras, 2001)</i>	21
<i>Tableau V : Paramètres biologiques du rat, de la souris et du cobaye (FLECKNELL)</i>	23
<i>Tableau VI : Risques et mesures de protection chez les rongeurs lors d'une anesthésie (Junot, 2011)</i>	28
<i>Tableau VII : Comparaison des deux types d'anesthésie (Travail personnel)</i>	37
<i>Tableau VIII: Exigences relatives aux personnes utilisant des animaux de laboratoire au sein d'un établissement utilisateur (expérimentation ou élevage) à partir de 2013 (d'après l'arrêté du 1/02/2013).</i>	42
<i>Tableau IX : Récapitulatif des documents utilisés à chaque séance</i>	51
<i>Tableau X : Répartition et marquage des souris</i>	52
<i>Tableau XI : Observations effectuées lors du deuxième essai (une souris par essai)</i>	59
<i>Tableau XII : Observations effectuées lors du troisième essai (une souris par essai)</i>	60
<i>Tableau XIII: Bilan général des séances</i>	63



## INTRODUCTION

L'animal de laboratoire, au sens du code rural, est un animal vertébré utilisé à des fins expérimentales ou à d'autres fins scientifiques (Annexe 1). Le recours à l'animal, ce aussi bien en médecine humaine que vétérinaire, permet de très nombreuses découvertes, tant pour une meilleure connaissance des maladies que pour en proposer des diagnostics plus précoces, des moyens de prévention ou de traitement efficaces. Dans de nombreux domaines, l'étude sur l'animal fait progresser la recherche biomédicale de manière décisive.

Depuis plusieurs années, l'expérimentation animale suscite des polémiques, soulève des problèmes éthiques. Lorsqu'il n'est pas possible de se passer de l'animal, il est important de réfléchir à des méthodes alternatives visant à diminuer leur souffrance et à améliorer leur bien-être. Dès 1959, le principe des « 3R » est énoncé par Russel et Burch : *Replace, Reduce and Refine* (GIRCOR, n.d). Ce principe signifie qu'avant toute réalisation d'une expérimentation, les responsables auront tenté de réduire le nombre d'animaux utilisés, d'éviter leur utilisation en cherchant des méthodes de remplacement ou encore de raffiner l'expérience.

L'anesthésie est une nécessité en matière de bien-être et de raffinement dans l'utilisation des animaux de laboratoire. En effet, celle-ci permet de suspendre temporairement et réversiblement la conscience de l'individu mais aussi la sensibilité douloureuse, et d'obtenir le relâchement musculaire, via une médication fixe ou volatile. Cette science facilite la réalisation de gestes chirurgicaux ou simplement de contention, invasifs ou non, dans le respect de l'animal.

Cependant, l'anesthésie présente des risques et sa maîtrise n'est pas simple ; il est important de savoir surveiller son évolution, sa profondeur, les fonctions vitales de l'animal afin d'éviter des complications néfastes, d'être sûr de réaliser les expériences dans des conditions optimales et fiables. Pour cela il faut maintenir l'homéostasie : garder les paramètres biologiques de l'organisme relativement constants, ou à tout le moins évaluer les répercussions de la méthode d'anesthésie sur ces paramètres. D'autre part, l'anesthésie peut affecter les résultats expérimentaux de nombreuses manières, imposant un choix judicieux du protocole le plus adapté à chaque projet de recherche.

Il est donc essentiel d'intégrer l'enseignement d'une anesthésie adaptée au sein des formations proposées aux personnes utilisant des animaux de laboratoire.

Notre travail vise à analyser ces formations de façon à organiser des enseignements théoriques et pratiques pour répondre aux besoins particuliers de ces publics. Nous nous limiterons à l'anesthésie du rat et de la souris, qui sont les espèces utilisées à plus de 87%.

Dans une première partie, nous établirons la place actuelle de l'anesthésie en expérimentation animale, les connaissances utiles aux expérimentateurs pour l'anesthésie des rongeurs, et les principales recommandations disponibles. Dans une seconde partie, nous nous intéresserons aux modalités de formation des personnels en expérimentation animale, et nous détaillerons la mise en place de Travaux Pratiques visant à enseigner une anesthésie adaptée sur les rongeurs de laboratoire.

# PREMIERE PARTIE : L'ANESTHESIE EN EXPERIMENTATION ANIMALE

## 1 Importance de l'éthique et du bien-être animal

---

### 1.1 Définitions et contexte

Dans la quête de connaissances de l'Homme en biologie, médecine, chimie et bien d'autres domaines encore, les animaux sont devenus une étape indispensable de la recherche biologique et médicale. Ils ont permis la découverte des vitamines, des antibiotiques et de vaccins, pour ne citer que quelques exemples (Annexe 1). Cependant, la prise en compte de la sensibilité animale est une préoccupation forte de notre société, inscrite dans la loi depuis le 10 juillet 1976 : « Etant un être sensible, l'animal doit être placé par son propriétaire dans des conditions compatibles avec les besoins de son espèce ». Les animaux de laboratoire n'échappent pas à cet impératif d'où le devoir de tout expérimentateur de tenir compte de la douleur infligée à l'animal lors des expériences et celles-ci sont soumises à un encadrement réglementaire important, sous le contrôle des services d'inspection du Ministère de l'Agriculture. Cependant des principes éthiques s'imposent aux chercheurs. Plus les recherches sont exposées sur le devant de la scène, plus les notions d'éthique et de bien-être animal vont évoluer et prendre une place importante.

En effet, le bien-être animal et la douleur sont des préoccupations présentes depuis des années dans l'esprit du grand public ainsi que des chercheurs. Devant ces préoccupations et l'utilisation accrue des animaux en recherche, les biologistes anglais W.M.S. Russell et R.L. Burch se sont penchés sur ces questions. Dans leur monographie publiée en 1959, *The Principles of Humane Experimental Technique*, ils proposent pour la première fois le principe des Trois R, signifiant *Remplacement, Réduction et Raffinement*. Ce principe a fait son chemin depuis une quarantaine d'années et est dorénavant reconnu comme principe éthique dans de nombreux pays du monde. Les alternatives de *remplacement* désignent les méthodes permettant d'éviter ou de remplacer l'utilisation d'animaux : nous pouvons distinguer le remplacement complet par des modèles informatiques, et le remplacement relatif par des animaux au moindre potentiel de perception de la douleur comme certains invertébrés. Concernant la notion de *réduction*, nous pouvons énoncer toute stratégie débouchant sur l'utilisation moindre d'animaux ou alors sur la maximisation des informations obtenues par animal testé : ceci permet de limiter les animaux supplémentaires sans compromettre le bien-être animal. Enfin, les mesures de *raffinement* minimisent la douleur, la détresse des animaux et de ce fait améliorent le bien-être animal en modifiant l'élevage ou les procédures expérimentales. (CCPA)

Au-delà des principes fondateurs des 3R, les principes de base de l'éthique en expérimentation animale sont énoncés dans *Les principes d'éthique de l'expérimentation animale* (Charte Nationale portant sur l'éthique en expérimentation animale, Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche, 2008), établis au Congrès de Lyon le 19 septembre 1978 puis revus en 1979 au centre Européen de la Tufts University. Ce document

reconnait l'importance et l'obligation de progresser en matière de biologie et médecine, qu'elle soit humaine ou vétérinaire. De plus, la nécessité de recourir à l'animal dans cette quête de progrès est reconnue ; cependant, il est du devoir de l'homme de respecter l'animal, être vivant, outil de ses recherches. L'expérimentateur se doit donc d'être conscient de l'existence d'une sensibilité, d'une mémoire chez les animaux ; mais aussi de la souffrance et la douleur qu'un protocole est susceptible d'occasionner. (LAROCHE, ROUSSELET (1990))

Ce document met aussi en avant les responsabilités qu'un expérimentateur accepte de porter en utilisant des animaux de laboratoire. Elles sont à la fois au niveau de la justification des expériences (choix de l'espèce), au niveau des compétences (« bonnes pratiques » d'où l'importance des formations) et au niveau du résultat. Enfin, le mode de vie, les caractéristiques physiologiques et anatomiques doivent être pris en compte. Tout ceci visant à respecter au mieux le bien-être animal : on parle de bien-être lorsqu'un animal reçoit tous les soins visant à satisfaire au mieux ses besoins physiologiques et comportementaux (GIRCOR, 2008). Le GIRCOR (Groupe interprofessionnel de réflexion et de communication sur la recherche) est une association loi 1901 visant à expliquer au public les raisons et les conditions de l'utilisation de l'expérimentation animale dans la recherche. Leur réflexion est basée sur une recherche scientifiquement valable et éthiquement tolérable.

Par ailleurs, en faisant avancer la médecine et ses techniques, telles que l'anesthésie ou la chirurgie, il n'y a pas de raison pour que les animaux de laboratoire n'en profitent pas par la suite, améliorant de ce fait leur bien-être.

Outre la démarche éthique individuelle des personnes travaillant avec des animaux de laboratoire, les *comités d'éthique* sont des structures qui harmonisent l'approche éthique en assurant une évaluation préalable à la mise en œuvre des protocoles expérimentaux. Ces comités valident après évaluations et discussions le projet du chercheur et ses protocoles, afin d'assurer le meilleur équilibre entre la protection animale et la qualité scientifique de la recherche. Les premiers comités d'éthique ont été créés aux USA (« IACUC »), où ils sont obligatoires. Ils sont apparus en France dans les années 80 sur la base du volontariat, dans de nombreuses entreprises privées ou publiques. En 2005, la *Fédération européenne des associations des sciences de l'animal de laboratoire* (FELASA) a montré que vingt pays membres ont créé des comités d'éthique (GIRCOR, 2008). L'évolution récente de la législation européenne sur la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques rend obligatoire à partir de 2013 l'évaluation éthique dans tous les pays (Directive UE2010/63). En France, la transposition de la directive a été réalisée sous forme d'un décret (2013-118) modifiant le Code Rural (articles R214-87 à 137) et de 5 arrêtés publiés le 1<sup>er</sup> février 2013.

L'évaluation éthique prend en compte l'intérêt du modèle animal ainsi que la nécessité d'utiliser des animaux pour atteindre les objectifs visés. Elle évalue les chances de réussite, les techniques et les méthodes. Enfin, elle vérifie les contraintes subies par les animaux et si toutes les méthodes alternatives ou de raffinement ont été mises en œuvre.

## **1.2 Réglementation de la protection des animaux de laboratoire**

Dès le 2 Juillet 1850, la loi GRAMMONT s'intéressait déjà à la protection des animaux domestiques. Un texte fondateur de la responsabilité du détenteur d'animaux paraît en 1976 : il s'agit de la loi n°76-629, qui limite les expériences biologiques médicales et scientifiques au cas de nécessité, et qui détermine que « tout animal étant un être sensible

doit être placé par son propriétaire dans des conditions compatibles avec les impératifs biologiques de son espèce ».

De façon générale, la santé animale et la protection animale sont réglementées par le Code Rural au Livre II (partie législative et partie réglementaire) : détention, identification, transport, contrôle sanitaire, capacités... Ces mesures s'appliquent également aux animaux utilisés en expérimentation.

Des mesures particulières de protection des animaux de laboratoire ont été établies dès 1968 (Décret n°68-139). Cependant ce décret est resté sans suite en absence d'arrêtés.

La réglementation française en expérimentation animale s'est mise en place effectivement à partir de 1987, à l'issue d'un Traité du Conseil de l'Europe (ETS123) qui a donné lieu à la Directive CEE86/609. Cette Directive et ses annexes ont été révisées plusieurs fois, en 2003 et 2006, donnant lieu à son remplacement par la Directive UE10/63 en septembre 2010. (Tableau I: Synthèse de la réglementation applicable à la protection des animaux de laboratoire )

**Tableau I: Synthèse de la réglementation applicable à la protection des animaux de laboratoire**

Réglementation européenne	Réglementation française	
	Journal officiel	Code Rural
	Loi n° 76-629 du 10 juillet 1976 relative à la protection de la nature	
	Décret n°68-139 du 6 février 1968	
Convention ETS 123 puis Directive CEE86/609	Décret n°87-848 (modifié par Décret n°2001-464) et arrêtés du 19 avril 1988 Décret n°2001-131 Arrêté du 21 mai 2003 Décret n° 2005-264	L214-3 R214-87 à R214-130
Directive UE10/63 (remplaçant CEE86/609)	Décret n°2013-118 5 Arrêtés du 1 <sup>er</sup> février 2013	R214-87 à R214-137

La réglementation européenne mentionne clairement l'obligation de prise en charge de la douleur et de l'anesthésie (Directive UE10/63, article 14). Elle mentionne la nécessité de s'assurer de la compétence du personnel (Directive UE10/63, article 23).

La réglementation française définit les modalités d'application de la réglementation européenne, en particulier le contrôle de l'expérimentation animale par les autorités :

- de 1988 à 2012 : toute personne qui se livre à des expériences sur les animaux doit être muni d'une autorisation nominative [...] ou à défaut ne pratiquer que sous la direction et le contrôle d'une personne titulaire de cette autorisation.
- à partir de 2013 : chaque projet utilisant des animaux de laboratoire devra être autorisé par le Ministère de la Recherche et de l'Enseignement supérieur, après avis d'un comité d'éthique. Il est nécessaire de classer a priori la gravité des procédures en se basant sur la souffrance, la douleur et l'angoisse.

### 1.3 Réglementation de l'anesthésie en expérimentation animale

La douleur susceptible de survenir au cours d'une expérimentation doit être évaluée a priori pour effectuer une prise en charge adaptée, préventive et/ou curative. Il existe pour cela plusieurs systèmes de classement :

- la réglementation suisse, largement utilisée comme guide pratique dans les autres pays, définit *4 degrés de sévérité* en fonction de la douleur (Office Vétérinaire Fédéral) Tableau II: Classement de la sévérité des protocoles (Office vétérinaire Fédéral)
- la réglementation européenne définit *4 degrés de gravité* : sans réanimation (intégralement sous anesthésie générale sans reprise de conscience), légère, modérée, sévère.

Tableau II: Classement de la sévérité des protocoles (Office vétérinaire Fédéral)

Degrés de gravité	Contraintes	Caractéristiques de l'intervention
0	Absence	Pas de douleur, Pas d'anxiété
1	Légère	Douleur, Courte durée
2	Moyenne	Douleur, Courte durée (ou contrainte légère de durée moyenne à longue)
3	Sévère	Grande douleur

La réglementation française mentionne l'anesthésie dans 2 articles :

- *Article R214-91* : « Les expériences sur des animaux vivants qui peuvent entraîner des souffrances doivent être pratiquées sous anesthésie générale ou locale ou après recours à des procédés analgésiques équivalents, sauf si la pratique de l'anesthésie ou de l'analgésie est considérée comme plus traumatisante pour les animaux que l'expérience elle-même. Lorsque les expériences sont incompatibles avec l'emploi d'anesthésiques ou d'analgésiques, leur nombre doit être réduit au strict minimum et la nécessité de ces modalités de mise en œuvre doit être justifiée dans la demande d'autorisation mentionnée à l'article R. 214-99. Ces expériences sans anesthésie ou analgésie, lorsqu'elles ont pour conséquence d'exposer l'animal à des douleurs intenses ou susceptibles de se prolonger ou au risque de telles douleurs, doivent être expressément déclarées et justifiées par le titulaire de l'autorisation d'expérimenter, auprès du préfet, préalablement à leur mise en œuvre. Il ne peut être procédé sans anesthésie ou analgésie à plus d'une intervention douloureuse sur un même animal. »

- Article R214-92 : « Un animal ne doit pas être gardé en vie après une expérience s'il risque de souffrir de façon prolongée ou permanente ou s'il doit subir l'effet de dommages irréversibles ou durables. Il doit en ce cas être sacrifié avant la fin de l'anesthésie ou le plus rapidement possible lorsque l'expérience a été faite sans anesthésie. Si un animal est gardé en vie, il doit recevoir dès la fin de l'expérience les soins nécessaires à l'atténuation de la souffrance. »

L'anesthésie vise à amener une perte de sensibilité mais aussi une analgésie afin de pouvoir réaliser de douloureuses interventions de manière éthiquement acceptable. De plus, l'anesthésie peut aussi être employée afin de réduire le stress provoqué par une contention ou une immobilisation prolongée. Enfin, l'anesthésie peut être indiquée lorsque la manipulation de l'animal vigile est risquée (animal sauvage, risque biologique...).

## 2 Principes généraux de l'anesthésie des rongeurs

---

### 2.1 Rappel des principes de base de l'anesthésie

L'anesthésie se définit comme un état clinique obtenu à l'aide d'agents médicamenteux qui se décompose en quatre éléments qui se doivent d'être présents Figure 1 (4avet):

- l'**analgésie** ou absence de douleur (analgésie adaptée à la profondeur de la procédure. On distingue 4 paliers de douleur : Annexe 3).
- la **narcose** ou absence de conscience (nécessaire chez les rongeurs pour éviter tout stress et réaction de défense, même involontaire et réflexe),
- la **myorésolution** ou relâchement musculaire (plus ou moins souhaitable selon le type d'intervention prévue et le risque de dépression cardio-vasculaire et respiratoire associé) et,
- la **protection du système neuro-végétatif** (largement dépendante de la dose et du type d'anesthésie).

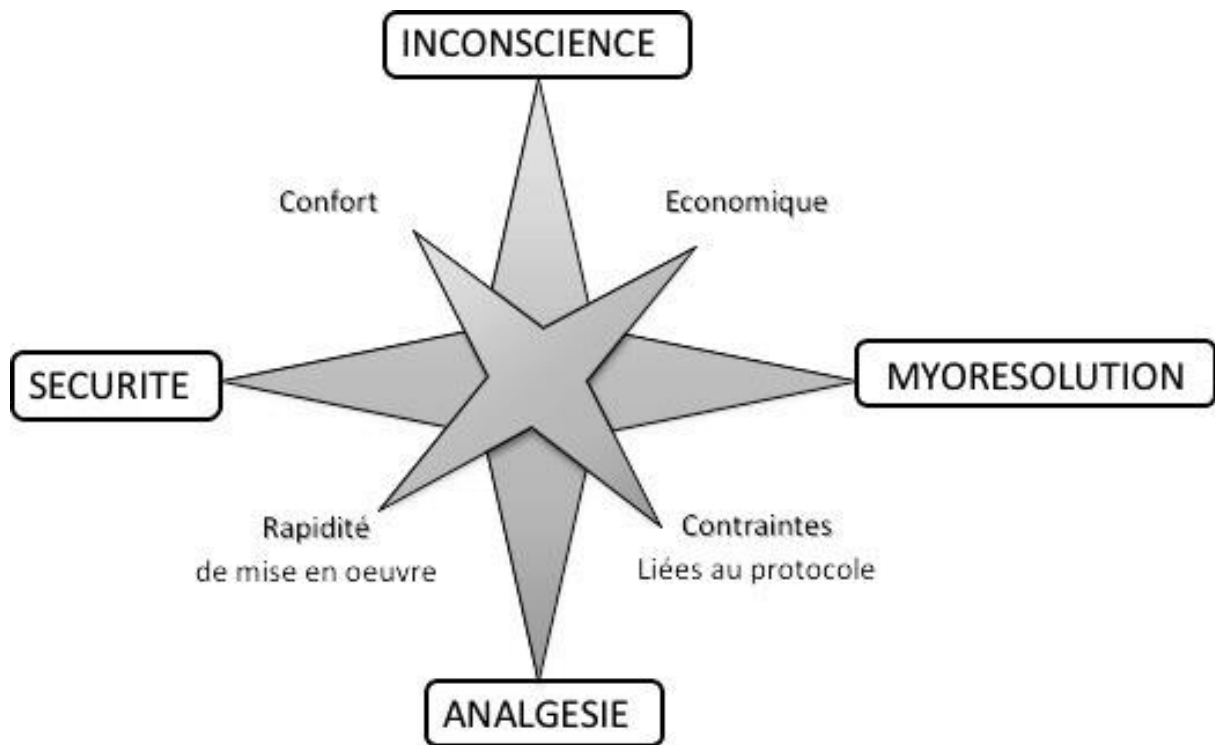


Figure 1: Objectifs de l'anesthésie (4avet : Association Vétérinaire pour l'Anesthésie et l'Analgésie Animale)

On peut définir 4 niveaux lors d'une anesthésie générale, les stades de GUEDEL (Tableau III: Les Etapes de l'anesthésie générale : dépression du SNC et stades de Guedel (LUMB et JONES', 2007)). Le stade 3 est optimal pour l'anesthésie, mais il est précédé par des phases 1 et 2 critiques qui doivent être franchies le plus rapidement possible, et durant lesquelles les risques doivent être suivis et prévenus.

Tableau III: Les Etapes de l'anesthésie générale : dépression du SNC et stades de Guedel (LUMB et JONES', 2007)

Les 4 étapes de l'anesthésie générale = les stades de GUEDEL		
1. Excitation volontaire	Jusqu'à la perte de conscience	Durée variable (stress, environnement) : attention aux blessures Apnée, relâchement des sphincters Ataxie progressive
2. Excitation involontaire = phase de délire	Jusqu'à mise en place d'un rythme respiratoire normal	Réflexes exagérés : éviter les stimuli extérieurs, attention blessures Tachypnée, hyperventilation Attention aux arythmies cardiaques
3. Anesthésie chirurgicale	Inconscience Myorelaxation Respiration calme et régulière	Classement : légère, moyenne, profonde
4. Surdosage = Mort imminente	Arrêt respiratoire	Surdosage, arrêt cardio-respiratoire

Néanmoins, il n'existe pas de molécule anesthésique idéale, remplissant parfaitement ces 4 objectifs sans effet indésirable, utilisable quelle que soit l'espèce. Il est donc nécessaire de créer un protocole d'anesthésie qui tienne compte :

- de l'espèce, voire de l'individu s'il présente une fragilité particulière. De manière générale et systématique, l'âge, le sexe, le poids, la souche, l'état de santé, les anesthésies préalables, et le comportement individuel doivent être pris en compte quelle que soit l'espèce.
- de la durée et du degré d'anesthésie requis, selon le geste expérimental prévu : simple contention pour une radiographie ou procédure chirurgicale...
- des interférences possibles –très nombreuses - des médicaments d'anesthésie avec l'expérience. Au premier plan, les altérations physiologiques durant l'anesthésie peuvent perturber les examens effectués durant cette phase (modification du rythme respiratoire, du système cardio-vasculaire ou du métabolisme) ; par ailleurs, des modifications métaboliques/neurologiques à moyen ou long terme peuvent constituer des facteurs de biais expérimentaux chez des animaux qui ont subi une anesthésie auparavant (induction d'enzymes hépatiques..).

## 2.2 Les produits de l'anesthésie

L'expérimentateur devra donc choisir – parmi plusieurs familles médicamenteuses - la ou les molécules qui seront administrées, ainsi que les doses et les modalités d'administration, et surveiller à la fois la qualité de l'anesthésie-analgésie et l'homéostasie.

Il est souvent nécessaire pour obtenir une anesthésie de qualité de combiner plusieurs molécules : on distingue des agents de prémédication (destinés à améliorer la qualité de l'anesthésie notamment en protégeant le système neuro-végétatif, et à diminuer les doses d'anesthésiques), les agents inducteurs et les agents d'entretien de l'anesthésie. Il est fréquent d'associer des analgésiques lorsque cette valence est peu couverte par l'agent d'anesthésie principal.

Dans les paragraphes suivants, seuls les agents de prémédication, les antalgiques et les anesthésiques couramment utilisés chez les rongeurs seront décrits.

### a Prémédication – analgésie

La manière d'appréhender l'animal avant une anesthésie est primordiale. En effet, un état d'excitation ou de stress peut compliquer la mise en place de l'anesthésie, entraîner des difficultés circulatoires, voire des réactions de choc à l'anesthésie. L'emploi d'agents pré-anesthésiques se révèle alors judicieux. Même si cette technique est plus utilisée dans les grandes espèces et les carnivores domestiques, elle devrait être élargie aux autres espèces et en particulier aux rongeurs très sensibles au stress. Ces agents vont permettre de réduire l'anxiété de l'animal, mais aussi de réduire la dose d'agent inducteur utilisé (de 30 à 50 % en moyenne d'après *Laboratory Animal Anaesthesia* : FLECKNELL, 2009), de diminuer les sécrétions salivaires et bronchiques, d'inhiber les réflexes vasovagaux ainsi que les risques liés à l'anesthésie. Ces sédatifs ou tranquillisants peuvent apporter une analgésie prolongée. La prémédication est principalement préconisée chez les rongeurs lorsqu'une induction par voie veineuse est envisagée.



Le choix de l'agent de prémédication est fonction de quatre facteurs : l'espèce, le choix de l'agent inducteur, des préférences personnelles et des interférences avec le protocole.

Les agents protecteurs du système neuro-végétatif sont les anticholinergiques. Chez le rat, l'**atropine** peut s'utiliser à 0,05 mg/kg IP ou SC et le **glycopyrrolate** à 0,5 mg/kg IM afin de réduire la production de salive et de sécrétions bronchiques mais aussi afin de protéger le cœur d'une inhibition vagale d'après OLSON et al. 1993. Cette utilisation existe aussi chez la souris avec l'atropine à 0,04 mg/kg SC-IM ou IP (TARIN and STURDEE, 1972). Cependant, ces molécules présentent deux inconvénients majeurs : d'une part, elles augmentent la consommation en oxygène et d'autre part, elles épaississent les sécrétions. Leur emploi est souvent associé à des agents sédatifs ou des opioïdes.

Les agents sédatifs, qui peuvent être utilisés avant ou en même temps que les inducteurs d'anesthésie sont les benzodiazépines, les alpha2-agonistes ou encore les phénothiazines. Les phénothiazines telles que l'**acepromazine** (ACP) peuvent être utilisées. L'ACP est un bon tranquillisant qui potentialise les effets analgésiques et anesthésiques d'autres molécules. Il présente en plus un effet protecteur du myocarde. Néanmoins, il existe quelques inconvénients à son utilisation ; l'effet analgésique est nul, son utilisation n'est pas réversible et entraîne de l'hypothermie voir hypotension et convulsion. Enfin, il n'agit qu'en 15-20 minutes et dure au minimum 3 heures.

Les benzodiazépines telles que le **diazépam** ou le **midazolam** sont utilisées en association avec des morphiniques ou des anesthésiques dissociatifs. Ces agents présentent des effets cardio-respiratoires mineurs, anticonvulsivants et myorelaxants. Leur utilisation est réversible via le Flumazenil. Une faible sédation est procurée ainsi qu'aucune analgésie ; une excitation paradoxale peut être présente. Il faut noter que le diazépam est peu soluble : il n'est pas recommandé de l'associer dans une même seringue avec l'agent d'anesthésie.

Les alpha2-agonistes sont représentés par la **xylazine**, la **médétomidine/dexmédétomidine**. Ce sont des sédatifs puissants présentant une bonne analgésie et myorelaxation. Leur utilisation est réversible via l'atipamezole et la yohimbine et présente un effet synergique. Il est toutefois important de se méfier des effets cardiovasculaires et de l'efficacité plus ou moins variable. De plus, les alpha2-agonistes sont contre-indiqués chez les animaux jeunes ou âgés, ayant des troubles cardiovasculaires, étant en choc ou encore diabétiques (Lumb et Jones, 2007). Les alpha2-agonistes peuvent produire une hyperglycémie ainsi qu'une polyurie (Lloyd et Wolfensohn, 2003).

La valence analgésique prend une place importante dans le monde expérimentale de nos jours ainsi que dans l'opinion publique : en effet, la douleur animale est un des sujets de la protection animale le plus sensible. Il est jugé inacceptable « de ne pas donner un traitement analgésique approprié aux animaux manifestement exposés à la douleur ». (Weary et al, 2006) Cependant, la mise en place d'une analgésie efficace n'est pas encore monnaie courante. En effet, certains obstacles empêchent l'adoption de bonnes pratiques d'analgésie, en particulier chez les rongeurs : une diffusion insuffisante des connaissances sur les techniques d'évaluation de contrôle et de traitement de la douleur, un niveau des intervenants insuffisant en matière de gestion de la douleur. (Karas, 2006) De plus, certains chercheurs considèrent l'anesthésie comme un moyen d'immobilisation mais aussi comme une stratégie analgésique. Mais, comme nous l'avons vu les anesthésiques couramment utilisés dans le passé comme l'éther ou le pentobarbital ne présentent aucune valeur analgésique. Il est donc préférable de recourir aux thérapies multimodales. (Mellor et al, 2009)

En effet, avec les avancées scientifiques sur le mécanisme physiopathologique de la douleur, le traitement multimodal est mis en avant. Le fait de bloquer la transmission des stimuli douloureux à la fois au niveau périphérique et central en combinant plusieurs analgésiques, induit une meilleure prise en charge. De plus, cette association permet de réduire les effets indésirables induits par chaque classe de molécule.

Trois catégories sont principalement utilisées :

- Les anesthésiques locaux, lidocaïne et dérivés : L'anesthésie locale peut être utilisée afin de réduire la douleur post-opératoire en neutralisant la propagation des influx nerveux au niveau de la zone opérée. L'administration locale est réalisée lorsque la taille de l'animal le permet. Il est préférable d'utiliser de la lidocaïne atropinée et d'éviter l'injection dans un vaisseau sanguin. Son action est rapide (environ 15 minutes) et courte. Cet agent s'utilise en solution à 5 mg/mL en diluant  $\frac{1}{4}$  de la solution commerciale à 20 mg/mL dans de l'eau stérile, sans dépasser 7 mg/kg total, soit 40  $\mu$ L pour une souris et 350  $\mu$ L pour un rat environ. Ces anesthésiques sont principalement destinés au traitement de la douleur aiguë ainsi que dans le cadre d'une analgésie multimodale.
- Les anti-inflammatoires non stéroïdiens, AINS : Cette catégorie présente des propriétés anti-hyperalgésiques en agissant à la fois au niveau central et périphérique, anti-inflammatoires et antipyrétiques. Les AINS ont une longue durée d'action et ne sont pas contrôlés comme les morphiniques. Il est préférable de ne pas les employer sur des animaux présentant des lésions rénales, une hypovolémie, ou en présence d'une hémorragie chirurgicale sévère attendue. Leur principal effet secondaire est une irritation de la muqueuse intestinale et la formation d'ulcères. On retrouve le Carprofène (5 mg/kg PO BID), Ibuprofène, Kétoprofène (5 mg/kg IM) ou encore le Méloxicam (1<sup>ère</sup> administration : 0.2 mg/kg en SC/IV/PO puis 0.1 mg/kg SID). Leur administration est réalisée par voie orale ou injectable en fonction des molécules. Le Kétoprofène sera préféré en post-opératoire. Le Méloxicam est l'AINS recommandé chez les petits mammifères. (Lichtenberger, 2007)
- Les Morphiniques : On distingue trois principaux morphiniques, la morphine-le butorphanol-la buprénorphine. Ces molécules présentent une très bonne analgésie, plus durable que la morphine, mais aussi une neuroleptanalgie étant donné qu'elles potentialisent les autres agents anesthésiques. Leur utilisation est réversible avec la naloxone. Cependant, comme toute famille, elle présente ces inconvénients : un effet dépresseur respiratoire ainsi qu'une excitation paradoxale. Leur administration est de préférence par voie injectable. Pour des raisons pratiques, lorsque l'antalgie doit être maintenue sur plusieurs jours il est préférable de fournir la buprénorphine par voie orale, à 0,4-1mg/kg, en la mélangeant à un aliment appétant et connu de l'animal (Nutella, confiture...) (Abelson et al, 2012).

Un morphinique particulier chez les rongeurs est le Fentanyl, un mu-agoniste. En association avec la fluanisone (un butyrophenone, agent sédatif), il procure une bonne analgésie, une immobilité mais une faible myorelaxation. Cette association nommée HYPNORM® présente un effet dépresseur respiratoire. Elle est souvent associée à une benzodiazépine afin de procurer une anesthésie suffisante pour une chirurgie. Leur administration peut être réalisée dans une seule seringue par voie intramusculaire ou intra péritonéale. (SELF, 2007) Le Fentanyl est disponible aussi en patch transdermique matriciel qui délivre une concentration

stable sur 72 heures : l'emploi est compliqué mais possible chez le rat, en découpant le patch – selon la dose nécessaire - et en le collant solidement sur la peau rasée.

En 2000, une étude a été menée sur deux groupes de 11 rats mâles anesthésiés toutes les semaines pendant 6 semaines. Un groupe recevait le protocole kétamine/médétomidine seule à 60/0.4 mg/kg IP, et l'autre kétamine/médétomidine à 45/0.3 mg/kg IP, avec une injection de buprénorphine une heure avant. Les animaux ayant reçu la buprénorphine (0.05 mg/kg SC) présentent un temps chirurgical plus long (146.3 contre 103.5 minutes en moyenne) ainsi qu'une meilleure profondeur (cf. reflexe de la patte) et une fréquence respiratoire inférieure (36 contre 64 rpm). Cette étude montre l'intérêt de la prémédication en termes d'allongement de la durée de l'anesthésie et sa profondeur. Cependant, il est important de garder à l'esprit l'effet dépresseur respiratoire qui peut amener par des surdosages à la mort de l'animal ou tout du moins augmenter les risques anesthésiques. Il est donc primordial d'adapter la dose à l'animal. (Hedenqvist and al, 2000)

De plus, les anti-inflammatoires non stéroïdiens agissent à la fois au niveau central et périphérique en diminuant l'inflammation pendant et après la chirurgie. Les opioïdes quant à eux n'auront un impact qu'au niveau central. Le principe d'analgésie multimodale apparaît donc évident : en agissant avec différentes familles de molécules, nous obtiendrons la meilleure analgésie possible. Cette association permet aussi de réduire les quantités de chaque agent car ils agissent en synergie et donc de limiter les effets indésirables associés à chaque famille de molécule. (Lichtenberger, 2007 et Annexe 3)

#### *b      Les principaux agents d'anesthésie chez les rongeurs*

Historiquement, l'éther, le CO<sub>2</sub> et le pentobarbital ont été largement utilisés à cause de la facilité d'emploi et de l'inconscience rapide ; cependant ils présentaient beaucoup d'inconvénients, en particulier une forte toxicité et une analgésie très insuffisante. Le CO<sub>2</sub> reste utilisé actuellement comme produit d'euthanasie chez les rongeurs car il assure un bon compromis entre efficacité et simplicité, mais l'effet anesthésiant est atteint à une concentration aversive et irritante pour les muqueuses nasales (> 40%).

Depuis, de nombreux protocoles plus efficaces et raffinés se sont développés. Les deux principaux types sont :

- les anesthésiques volatils en mélange avec l'O<sub>2</sub> : l'isoflurane est de très loin le plus utilisé actuellement chez les rongeurs, mais le sevoflurane commence aussi à être employé en raison de sa meilleure tolérance durant l'induction. Cependant, une étude de 2010 n'a pas montré de différences significatives (induction, réveil, réflexes, complications) entre l'isoflurane et le sevoflurane sur 64 souris (Cesarovic, 2010). Ces produits sont administrés par le moyen d'évaporateurs et de circuits de ventilation : il existe de nombreux systèmes commercialisés pour les rongeurs de laboratoire (les critères d'achat étant à la fois l'ergonomie du système et la sécurité de l'opérateur en réduisant son exposition au gaz). (Bacellar, 2012) Il est nécessaire de fournir de l'O<sub>2</sub> pur comme véhicule car la teneur en O<sub>2</sub> de l'air n'est pas suffisante étant donnée une dépression respiratoire marquée : l'O<sub>2</sub> peut provenir d'une bouteille comprimée avec détendeur (2l/min) ou d'un compresseur portatif.

En effet, l'**isoflurane** est l'agent volatil le plus utilisé chez les animaux de laboratoire ; d'une part, il entraîne peu de conséquences au niveau du métabolisme, d'autre part, il interfère peu avec la pharmacodynamique et la pharmacocinétique des autres agents. De plus, l'induction et le réveil sont rapides, le contrôle de la profondeur d'anesthésie est aisé et ses propriétés sont non irritantes, non explosives et non inflammables.

La puissance d'un agent anesthésique volatil est évaluée par sa concentration alvéolaire minimale (la CAM). Elle correspond à la concentration d'agent anesthésique nécessaire afin que 50 % des animaux ne présentent pas de réaction à une stimulation douloureuse. Plus la CAM est faible, moins il faut d'agent pour maintenir son anesthésie, donc plus l'anesthésique est puissant. D'après FLECKNELL, la concentration alvéolaire minimale chez le rat est de 1,38 et de 1,41 chez la souris. Il conseille de réaliser une induction à l'isoflurane à 4% et l'entretien entre 1,5 et 3 %.

Une étude a été réalisée en 2004 sur l'emploi de l'isoflurane sur des anesthésies de longue durée chez différentes souches de souris. L'induction est réalisée à 4%, la phase chirurgicale à 1,5% et les observations entre 0,8 et 1,3 %. Les souris étaient mises dans des conditions de monitoring quasi optimales : température corporelle maintenue à 37°C, contrôle de la pression artérielle, de la fréquence cardiaque, des gaz sanguins, perfusion d'un soluté. Cette étude a mis en évidence l'intérêt de l'emploi de l'isoflurane par ces différentes caractéristiques : simplicité d'utilisation, induction rapide, contrôle de la profondeur, faible complications, stabilité des paramètres cardiovasculaires. (Szczełnsny et al. 2004)

Par ces qualités, la réglementation tendrait à promouvoir l'utilisation de l'anesthésie volatile : diminution du taux de mortalité (presque nul), facilité de gestion de la profondeur, possibilité de prolonger la durée de l'anesthésie sans trop de risques. Cependant, nous pouvons y trouver quelques inconvénients majeurs : la nécessité d'un masque adapté (difficulté pour des procédures touchant la tête), inhalation de gaz pour les manipulateurs, et acquisition d'un matériel coûteux (vaporisateurs, système d'évacuation des gaz efficace afin de protéger les utilisateurs).

- Les anesthésiques « fixes » = injectables, appartenant à plusieurs familles : ils sont administrés par voie IV, IM ou IP, rejoignent le système nerveux central puis se redistribuent aux tissus périphériques.

Les barbituriques, dont le pentobarbital, ont été longtemps utilisés. Cependant, ils ne fournissent pas d'analgésie, provoquent une dépression cardio-respiratoire marquée (au point d'être toxiques) et leur effet diminue lorsqu'on répète les anesthésies par induction de la dégradation hépatique. Actuellement, le pentobarbital reste largement utilisé comme produit d'euthanasie, par surdosage.

On retrouve aussi dans cette catégorie, les anesthésiques *dissociatifs* (dissociation entre le corps et l'esprit), tels que la **kétamine**. Elle peut être utilisée en tant que tranquillisant ou anesthésique. Contrairement aux barbituriques, elle présente une analgésie, un soutien cardio-vasculaire, et peut s'administrer via différentes voies. Néanmoins, la surveillance est difficile et l'injection est douloureuse. La kétamine est associée assez souvent à un *alpha2-agoniste* tel que la xylazine en particulier, ou encore la médétomidine, afin d'atteindre un niveau anesthésique compatible avec des gestes chirurgicaux. Cependant, la xylazine augmente le tonus utérin, il faut donc l'utiliser avec prudence sur des animaux en gestation. Une étude a recherché en 2001 le protocole anesthésique injectable le plus sûr pour une chirurgie de moyenne durée chez la souris. Huit protocoles ont été testés, la sécurité et l'efficacité ont été étudiées : taux de mortalité, profondeur (paramètres physiologiques et réflexes) et temps chirurgical tolérable (vasectomie). Parmi les huit protocoles, nous

pouvons trouver des associations de dissociatifs, d'alpha2-agonistes et/ou de sédatifs. Le protocole kétamine/xylazine/acepromazine a permis d'atteindre le temps chirurgical le plus long (54 minutes) et la meilleure marge de sécurité. L'association kétamine/xylazine semble être l'option recommandée en matière d'anesthésie chirurgicale chez la souris, contrairement au protocole kétamine/médétomidine qui ne permet pas un stade chirurgical prolongé. (Arras, 2001) Tableau IV : Tableau comparatif des 8 protocoles utilisés pour la vasectomie (Arras, 2001)

Tableau IV : Tableau comparatif des 8 protocoles utilisés pour la vasectomie (Arras, 2001)

PROTOCOLES (mg/kg)	TAUX DE MORTALITE	PROFONDEUR	COMMENTAIRES
K(100)-X(20)	0	Faible	<b>EXCLU</b>
K(150)-X(30)	40 %	30 % stade chirurgicale	
K(100)-X(20)-ACP(3)	0	85 %	<b>PROTOCOLE RECOMMANDE</b>
K(100)-X(20)-A(3)	10-40 %	30-50 %	
T(80)-X(20)			
K(100)-A(80)	0	Faible, signe de douleur	<b>EXCLU</b>
K(100)-M(1)	0 (1 mort le lendemain)	0 % stade chirurgical	
K(100)-M(5)	60 %		

(K= Kétamine, X= Xylazine, ACP= Acepromazine, M= Médétomidine, A= Azaperone, T= Tilétamine)

Le tribromo-ethanol (Avertin®) est une molécule controversée, utilisée en médecine vétérinaire aux USA mais peu en Europe (et interdite en Suisse). Il s'agit en effet d'un anesthésique qui permet des actes chirurgicaux de courte durée. Néanmoins, son pouvoir analgésique n'est pas établi, et par ailleurs ce n'est pas un médicament mais un produit chimique dont la préparation pose problème (stérilité, risque de nécrose locale si le pH n'est pas contrôlé).

Le propofol est très peu utilisé chez les rongeurs car il impose une voie veineuse.

On peut signaler que l'uréthane reste, malgré ses nombreux inconvénients (produit cancérigène, absence d'analgésie..), un produit couramment utilisé pour les expériences sans réanimation chez le rat, car on obtient en une seule injection une inconscience avec une physiologie particulièrement stable.

## 2.3 Particularités de l'anesthésie des rongeurs en expérimentation animale

### a Caractéristiques physiologiques et anatomiques des rongeurs

L'espèce est un facteur primordial à étudier car chacune d'entre elles présente ses spécificités. La somme considérable de connaissances chez le rat et la souris depuis des décennies, autant que la facilité d'élevage et d'hébergement au laboratoire en font des modèles de recherche optimaux. Tableau V : Paramètres biologiques du rat, de la souris et du cobaye (FLECKNELL)

La première caractéristique des rongeurs est leur petite taille :

- Leur **ratio surface/poids** est très élevé, ce qui les expose à un risque d'hypothermie et de déshydratation rapide, d'autant plus en cas d'opération exposant les viscères à l'air libre. En effet, chez le rat, le ratio est de 0,18 contre 0,05 chez le chien et 0,03 chez l'homme (Pinkel, 1958). L'utilisation d'un tapis chauffant est fortement conseillée, car une hypothermie inférieure à 34 °C entraîne un réveil difficile et une morbidité accrue : troubles de la coagulation, troubles métaboliques, arrêt cardiaque (Lumb et Jones (2007), Kohn et al (1997)).
- Leur **métabolisme** très rapide est facilement altéré au cours de l'anesthésie, ce qui influence profondément la pharmacocinétique des anesthésiques (posologies souvent plus élevées, pour des anesthésies de plus courte durée que dans les grandes espèces). Par ailleurs, les agents anesthésiques modifient rapidement chez les rongeurs la circulation sanguine et l'état d'hydratation (polyurie..).
- Il est courant d'observer une **dépression respiratoire** au cours de l'anesthésie des rongeurs (fréquence <100bpm chez le rat et la souris). Le risque d'hypoxie sévère est important si l'anesthésie n'utilise pas une assistance avec O<sub>2</sub>. (Flecknell, 2009).
- Difficulté d'accès à une voie veineuse en raison de leur **petitesse** : en pratique la plupart des anesthésies fixes de la souris se font par voie intra-péritonéale (éventuellement sous-cutanée ou intramusculaire). L'exploration de la pression artérielle ou des gaz sanguins chez le rongeur nécessite un matériel spécialisé et coûteux qui n'est pas répandu dans les animaleries de recherche.
- Difficulté d'intubation trachéale en raison de leur taille : en pratique, sauf besoin particulier, l'anesthésie des rongeurs est rarement réalisée avec intubation. Le risque d'obstruction des voies respiratoires par des sécrétions est élevé.
- Difficulté d'évaluation des réflexes en raison de la petite taille : en pratique, les réflexes utilisés chez la souris sont essentiellement la réaction au **pincement de la queue** (au tiers distal) ou de la **patte postérieure**, ce qui représente une évaluation assez frustrée.

Il n'est pas nécessaire de mettre à jeun un rongeur du type rat ou souris avant une anesthésie en prévention des vomissements (Struck et al, 2011). En effet, l'anatomie de l'abouchement de l'œsophage à l'estomac rend les vomissements impossibles. Au contraire, une diète préopératoire peut provoquer une hypoglycémie ; celle-ci pourrait entraîner rapidement une ischémie cérébrale et par la suite un arrêt cardiaque ou respiratoire (Boussarie et al, 2002). Il peut exister quelques exceptions avec des cochons d'inde qui font une réserve de nourriture au niveau de leur pharynx. (Flecknell, 1996).

Il est très important de s'assurer des capacités respiratoires des animaux soumis à une anesthésie. Les agents infectieux qui provoquent des infections pulmonaires sub-cliniques chez les rongeurs sont nombreux : ils sont responsables de mortalité au cours de l'anesthésie, d'autant plus lorsque l'anesthésie entraîne une dépression respiratoire non compensée par un apport d'O<sub>2</sub> pur. On peut citer par exemple chez le rat *Mycoplasma pulmonis*, responsables de pneumopathies chroniques. Les animaux soumis à des émanations excessives d'ammoniac en raison d'une mauvaise hygiène de la litière présentent également des troubles respiratoires chroniques (lésions de la trachée provoquant des hypersécrétions).

La qualité sanitaire des animaux (statut « SPF : *specific pathogen free* »), leur hygiène et leur calme réduisent notablement les accidents d'anesthésie.

L'âge et l'état de santé des rongeurs sont des éléments importants à prendre en considération. Par exemple, l'anesthésie des animaux jeunes ou âgés présente plus de risque : d'après Lathe et Walker (1957) et Brown et al. (1958), le foie des jeunes animaux ne métabolise pas correctement les drogues ce qui expliquerait leur sensibilité accrue au phénobarbital et à l'éther (Weatherall, 1960). Les femelles rates semblent plus sensibles aussi au phénobarbital que les mâles (D'Alecy et Zambricki, 2004).

On constate chez les souris de laboratoire des différences notables dans les effets des anesthésiques d'une souche à l'autre, et d'un sexe à l'autre. De nombreuses lignées murines mutantes, soit spontanées soit par modification génétique, présentent des anomalies qui les rendent plus compliquées à anesthésier (obésité, anomalie pulmonaire ou cardiovasculaire..). Il n'existe pas à notre connaissance de revue bibliographique à ce sujet.

Tableau V : Paramètres biologiques du rat, de la souris et du cobaye (FLECKNELL)

	Poids (g)	T°C	FR (mpm)	FC (bpm)	V sang (mL)	Maturité sexuelle (mois)	Alimentation (g)	Eau (mL)	Age moyen (ans)
<b>Rat</b>	250-500	37-38,5	70-150	250-400	17,5-35	2	20-35	25-30	3
<b>Souris</b>	20-41	37-38	95-250	325-780	1,4-2,8	1,5	3-6	3-6	2
<b>Cobaye</b>	500-1200	37,5-38,5	45-150	150-380	35-90	2 (femelle) 3(mâle)	50-80	50-200	4

Enfin, à cause du comportement peu coopératif des rongeurs et du stress, il est souvent pratiqué des anesthésies par mélange de produits dans une même seringue, malgré les inconvénients que cela présente. L'anesthésie locale ou loco-régionale n'est pas pratiquée, sauf en complément d'une anesthésie générale pour augmenter l'analgésie au site opératoire.

#### *b* Recommandations usuelles

Il existe de nombreuses recherches sur l'anesthésiologie des animaux de laboratoire (on peut citer en particulier les publications de l'Université de Newcastle, Flecknell et coll.), et certains protocoles d'anesthésie font l'objet de larges consensus. Il existe de nombreux

ouvrages consacrés à l’anesthésie et à l’analgésie des animaux de laboratoire, et on trouve sur de nombreux sites internet universitaires américains des exemples d’anesthésies courantes. On peut noter cependant que les informations délivrées par ces sites internet risquent d’être utilisées sans discernement si elles ne sont pas accompagnées d’une formation générale à l’anesthésie. Figure 2

**THE INSTITUTIONAL ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE (IACUC)**

**ANESTHETIC & ANALGESIC DOSAGES** **DOSAGE TABLE**

Listing by Individual Species

Animal anesthesia, analgesia and pain management are crucial components of the animal use protocol. The standard of care at UCSF is to prevent animal pain whenever possible and to treat animal pain whenever diagnosed. Exceptions to these principles are permitted only in the minority of protocols approved by the Institutional Animal Care and Use Committee as USDA Category E (currently UCSF IACUC Category C).

Multi-modal anesthetic and analgesic regimens combine drugs from a variety of classes. They are designed to maximize the desired effects while minimizing those unhealthy side effects that occur with over-reliance on a single agent. [See More...](#)

[Mouse Dosage Calculator](#) for IACUC preferred Analgesics and Anesthetics.

DOSAGES BY SINGLE SPECIES										
	Cat	Dog	Guinea Pig	Hamster	Nonhuman Primate	Mouse	Rabbit	Rat	Sheep	Swine
Analgesia	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>
Anesthesia	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>
Animal ID	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>
Blood Collection	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>
Inj. Sites, Vols. & Needles	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>
Normative Values	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>
References	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>	<a href="#">↗</a>

Figure 2: Exemple de site universitaire d'informations en expérimentation animale (University of California, San Francisco)

Les recommandations de posologies en matière de prémédication et d’agents anesthésiques injectables chez le rat et la souris sont répertoriées en Annexe 2.



## 2.4 Mise en place d'une anesthésie chez les rongeurs

Chaque anesthésie présente ses spécificités : il est donc important de rédiger une procédure d'anesthésie adaptée aux animaux en cause et aux contraintes expérimentales. Cette procédure décrit les molécules, les modalités d'administrations, et les paramètres de suivi. Etant donnée la complexité des interactions entre l'anesthésie et les recherches, il est impératif de consigner les procédures utilisées, de les décrire précisément dans les publications et rapports, et si possible de les harmoniser entre laboratoires.

### *a Organisation générale*

Dans le cadre des anesthésies sur les rongeurs de laboratoire, les personnels travaillent en général sur des groupes d'animaux avec un temps limité. Ils doivent donc « travailler à la chaîne » : Il est malheureusement difficile d'apporter une attention individuelle et un suivi propre à chaque souris, et il faut donc établir d'avance des règles efficaces. Il faut que les participants à l'expérience aient une bonne connaissance de la procédure, du matériel, du temps imparti et des soins postopératoires.

Il est très important d'effectuer une anesthésie adaptée, de courte durée – pour réduire l'impact métabolique- et avec un bon réveil pour pouvoir remettre l'animal en cage en un minimum de temps, afin qu'il puisse rapidement se réhydrater, s'alimenter et se réchauffer. Les rongeurs étant hébergés le plus souvent en groupe, il faut faire attention à ce qu'un individu affaibli ou mal réveillé ne soit pas blessé par ses congénères.

Un certain nombre de précautions permettent d'assurer aux animaux une meilleure sécurité d'anesthésie :

- Absence de maladie (clinique ou sub-clinique) : les animaux doivent être en bonne santé, ou au moins en état de supporter l'anesthésie malgré une éventuelle contrainte expérimentale.
- Absence d'effort physiologique excessif : les animaux doivent être acclimatés à l'environnement et à l'alimentation pendant plusieurs jours avant de subir une anesthésie (en pratique, une acclimatation de 2 semaines est recommandée).
- Absence de stress : travail dans le calme, avec des animaux habitués aux expérimentateurs. Il est indispensable de limiter le stress qui contrecarre le bon déroulement de l'anesthésie (« l'animal lutte contre l'anesthésie »).
- Préparation optimale préalable de l'espace de travail et du matériel d'anesthésie, en particulier du circuit d'anesthésie volatile.

### *b Matériel*

Avant de s'atteler à la préparation de l'animal, un tour complet du matériel doit être réalisé. On vérifie la présence en quantité suffisante des consommables, des molécules. On s'assure que les produits ne sont pas périmés. Voici quelques points à vérifier sur la machine d'anesthésie gazeuse avant toute utilisation afin de réduire les risques d'accidents :

- Vérifier que l'oxygène arrive à un débit suffisant  
Contrôler la quantité suffisante de gaz anesthésique  
S'assurer que le matériel est adapté à l'espèce et à la taille de l'animal (masques spéciaux pour rongeurs...)

- Vérifier l'absence de fuite dans le circuit, et que les filtres et/ou systèmes d'aspiration sont opérationnels (aussi bien pour la sécurité de l'animal que pour celle de l'opérateur).

Si un moniteur est disponible, il est préférable de l'allumer en avance afin de le régler. Le tapis chauffant doit être aussi allumé 30 à 60 minutes avant l'expérience afin d'atteindre la bonne température. Ensuite, on s'assure d'une part que la cage de réveil est prête et à température suffisante. Les produits injectables sont préparés, en condition stérile, et mis à température ambiante. Une fois le matériel et les personnes prêts, la préparation des animaux peut commencer.

### *c Administration de l'anesthésie*

Un examen clinique de l'animal doit être réalisé, pesée comprise, dans l'idéal avant toute expérience et anesthésie. Si une modification de celui-ci ou un état général altéré sont mis en évidence, l'anesthésie devra être reportée.

Comme nous l'avons vu précédemment, la mise à jeun n'est pas nécessaire pour la souris, le rat ou les lagomorphes : les vomissements lors de l'induction sont inconnus dans ces espèces. Néanmoins, pour le hamster ou le cobaye, on conseillera un jeûne de 6 à 12h afin d'éliminer les résidus alimentaires conservés à la base de la langue. L'eau sera retirée quant à elle une heure environ avant l'induction. Enfin, si l'animal présente une diminution de la prise de boisson, des vomissements, diarrhées ou une hémorragie, une réhydratation per-opératoire devra être mise en place.

Les modalités d'administration des médicaments doivent être soigneusement adaptées pour éviter toute complication et toute douleur :

- les produits injectables doivent être stériles et administrés proprement pour éviter une infection. Il est très peu usité de prendre chez le rongeur les précautions d'asepsie qu'on prend dans les grandes espèces, mais cela peut être nécessaire pour des individus particulièrement fragiles, immuno-déficients.
- les mélanges de médicaments doivent être préparés extemporanément à partir de produits qui sont compatibles : il est impératif d'éviter les précipités qui faussent les doses effectivement administrées. Il existe pour cela des publications qui donnent des exemples de produits utilisés en mélange, et il est risqué de se hasarder à créer d'autres combinaisons. Les solutions ne peuvent pas se garder plus de 3 semaines, à 4°C. Les produits ne doivent pas être administrés froids (le froid de plus occasionne de la douleur).
- le volume d'administration doit respecter un bon compromis : suffisamment grand pour permettre une bonne précision de la dose/poids de l'animal, mais suffisamment faible pour ne pas occasionner de douleur et être absorbé rapidement par l'organisme. Il existe des recommandations sur les bonnes pratiques d'administration et de prélèvements chez les animaux de laboratoire, dont la principale a été publiée par un groupe de travail de l'ECLAM (European College of Laboratory Animal Medicine) qui fait référence (Diehl et al., 2001). Par exemple, chez une souris de 30g, on peut injecter 150µl par voie intra-péritonéale ou sous-cutané (jusqu'à 500µl en fait), mais seulement 50µl par voie intramusculaire.
- la voie d'administration doit être adaptée, selon l'espèce, le produit et le volume à administrer. Le matériel d'administration doit être choisi selon cette voie (taille de

Gauge des aiguilles chez le rat <23G, chez la souris <25G). Il faut utiliser des seringues de 0,5 ou 1ml pour augmenter la précision d'injections.

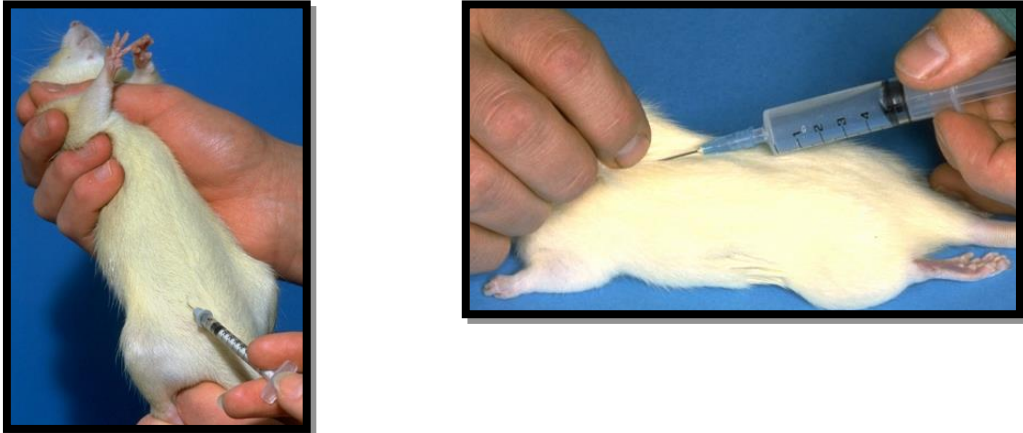


Figure 3: Exemples de voies d'administration, IP et SC (NEWCASTLE UNIVERSITY)

*d* Prévention des risques au cours de l'anesthésie

Chez les rongeurs, on effectue couramment des combinaisons des produits d'anesthésie dans une même injection, ce qui rend plus difficile de comprendre leurs parts respectives dans l'anesthésie. Différents risques peuvent être suivis et prévenus au cours de la procédure. Tableau VI : Risques et mesures de protection chez les rongeurs lors d'une anesthésie (Junot, 2011)

Tableau VI : Risques et mesures de protection chez les rongeurs lors d'une anesthésie (Junot, 2011)

Risques per anesthésiques et mesures de protection à mettre en place chez les rongeurs	
Hypothermie	Mesurer la température corporelle (sonde thermique : œsophagienne ou rectale, thermomètre)
	Placer l'animal sur une surface chaude (pas d'hyperthermie maligne chez les rongeurs) : tapis chauffant électrique/à circulation d'eau, éviter le contact avec l'innox, couvrir l'animal (papier bulle...)
Déshydratation	<p>Limitier les pertes liquidiennes per opératoires</p> <p>Administrer un sérum physiologique en sous-cutané en post-opératoire (réchauffé)</p>
Acidose	<p>Eviter la mise à jeun (inutile)</p> <p>Administrer un soluté de Ringer ou du sérum glucosé en post-opératoire (réchauffé)</p>
Dépression respiratoire	<p>Oxymétrie de pouls, Monitoring : FR/SaO2/EtCO2/PaCO2/FC/PA (ECG, Doppler)</p> <p>Auscultation/muqueuses/TRC/courbe respiratoire</p> <p>Choix des agents de prémédication et d'induction</p>
Dépression cardio-vasculaire	Assistance en cas de défaillance (réduction de l'anesthésie, massage thoracique, O2)
Sécrétions salivaires/ bronchiques	Prémédication : atropine, glycopyrrolate
Blessures (yeux...)	Protéger les yeux d'une blessure ou de la dessiccation : gel lacrymal
Douleur (Annexe 4)	<p><b>Attention tous les agents anesthésiques n'ont pas une bonne valence analgésique</b> : Prendre en charge la douleur : 1. Evaluation 2. Traitement et 3. Prévention.</p> <p>1. Plusieurs facteurs (intensité, espèce, subjectivité) : modifications comportementales (baisse du comportement exploratoire, isolement, diminution du toilettage), Position voûtée, piloérection, contractions abdominales, sécrétion de porphyrines (larmes rouges), poil piqué, réaction à la manipulation, anorexie, perte de poids. Utilisation d'un score de douleur adapté au protocole expérimental</p> <p>2. Arsenal thérapeutique (Annexe 3 : Paliers de la douleur (affiche effectuée par le Dr Samuel Vidal, au nom du Comité Régional d'Ethique en Expérimentation Animale Rhône Alpes, 2007)</p> <p>3. Analgésie préventive (limiter l'hypersensibilité) : couverture analgésique en pré, per et post-opératoire au besoin, complément par une anesthésie locale au cours de l'opération (lidocaïne...)</p>

## *e* Cas particuliers : Gestation et Néonatalogie

Des précautions particulières doivent être prises lors de l'anesthésie de femelles gestantes, afin de protéger la mère et le fœtus des effets indésirables. Dans le dernier tiers de gestation, le fœtus va occuper une place importante de la cavité abdominale ce qui augmente la pression et modifie les mouvements respiratoires. Il est donc préférable autant que possible d'éviter le décubitus dorsal et de privilégier les décubitus latéraux. Une intubation est envisageable afin de fournir une ventilation mécanique ou à minima, un apport d'oxygène avant l'induction est conseillé. La plupart des molécules utilisées traversent le placenta et peuvent donc avoir des effets à long terme sur le fœtus ; en particulier s'il y a naissance par césarienne, une dépression cardio-respiratoire peut apparaître ainsi qu'une sédation.

Il est donc conseillé d'utiliser une anesthésie équilibrée pour minimiser l'hypotension chez la mère et de favoriser les anesthésies locorégionales lorsque le cas le permet. Lors de la chirurgie, plusieurs recommandations sont faites :

- Réduire au maximum la durée de l'anesthésie
- Maintenir une bonne oxygénation afin de limiter l'hypercapnie
- Maintenir la pression sanguine : perfusion
- Surveiller la glycémie de la mère et corriger toute hypoglycémie.

Si l'on cherche à intervenir sur le fœtus, le plus simple est d'anesthésier la mère à un stade assez profond pour que le fœtus soit anesthésié aussi. Les agents volatils comme le méthoxyflurane sont conseillés dans ces cas-là. Une anesthésie locale peut être réalisée en plus au niveau du site chirurgical sur le fœtus.

Enfin, en ce qui concerne l'anesthésie des nouveaux nés, il faut se méfier de l'hypothermie et de la maturation incomplète du système cardio-respiratoire. Ils ont aussi moins de réserves énergétiques ce qui influera sur le post opératoire. Leur capacité de détoxification et d'élimination des molécules est moins efficace. On favorise donc l'emploi d'une anesthésie volatile (méthoxyflurane, à une concentration plus importante que les adultes : 2-3%) qui permet une élimination, un réveil et donc une réalimentation plus rapides. (Flecknell, 2009)

## *f* Profondeur d'anesthésie et son évaluation

Nous avons vu qu'une anesthésie générale est divisée en quatre stades et qu'elle pouvait s'obtenir via des drogues injectables ou des gaz anesthésiques. Lorsque le stade 3 est atteint par exemple, il est primordial de savoir surveiller la profondeur de son anesthésie afin que la chirurgie puisse avoir lieu dans des conditions optimales sans interférences entre les réactions sympathiques et les paramètres physiologiques. Évaluer au mieux la perte de conscience de l'animal est très important pour des raisons éthiques. Ceci demande une certaine expérience et des connaissances cliniques afin d'évaluer les sensations douloureuses et de tester la disparition de réflexes.

Il existe plusieurs réflexes pouvant nous aider à surveiller la profondeur de notre anesthésie (UQTR, 2011 et Combrisson, 2002):

- Réflexe *palpébral* : En touchant le coin de l'œil, l'animal cligne. Ce réflexe disparaît au stade 3.
- Réflexe *de retrait* : Un postérieur est mis en légère extension puis l'extrémité est pincée. L'animal retire alors sa patte, ce qui montre un signe de sensibilité douloureuse. Il est donc nécessaire d'attendre la disparition de ce réflexe avant l'entame d'une chirurgie : l'absence de réflexe de retrait est présente en théorie au début du stade 3. Chez les rongeurs, ce test peut être remplacé par le *pincement de la queue* : ils répondent en bougeant la queue, en secouant la tête ou éventuellement par des vocalisations.
- *Fréquence et courbe respiratoires* : Lors du stade 1, la respiration est rapide, régulière et thoraco-abdominale. Elle devient moins régulière au cours du stade 2 avec des phases d'apnée qui peuvent être présentes. Au fur et à mesure que l'anesthésie devient plus profonde, la respiration devient abdominale et la fréquence respiratoire diminue. Lorsque la profondeur est insuffisante, les fréquences cardiaques et respiratoires vont augmenter.

Néanmoins, même si ces réflexes nous donnent une indication, ils ne sont pas fiables à 100% car ils sont à relais médullaire. Une étude de Haberham et al. (1999) propose d'utiliser l'électroencéphalogramme (EEG) pour évaluer la perte de conscience. Ils anesthésient des rats au pentobarbital et implantent des électrodes tout en surveillant la profondeur du protocole avec le réflexe de retrait. Ils observent que le réflexe de retrait ne coïncide pas toujours avec les modifications de l'EEG et que l'absence de réflexe n'est pas toujours simultanée avec les tracés de perte de conscience de l'EEG. Ils concluent alors que chez des rats anesthésiés au pentobarbital, le réflexe de retrait n'est pas une méthode fiable pour estimer la profondeur de l'anesthésie. Cependant, les méthodes comme l'EEG ne sont pas simples à mettre en place à chaque fois.

#### *g*      Monitoring et surveillance

Après avoir administré un agent anesthésique et surveillé la profondeur de l'anesthésie, il est important de suivre l'évolution des constantes vitales, à la fois pour l'animal et pour la qualité de notre anesthésie.

D'une part, des observations cliniques simples ne doivent jamais être négligées et peuvent mettre en évidence une détérioration de l'animal à son prémisses : couleur des muqueuses, courbe et fréquence respiratoires, fréquence cardiaque et qualité du pouls, température rectale. Cependant, si la chirurgie est longue et délicate, il est préférable d'utiliser des moniteurs en tant que soutien.

D'autre part, nous pouvons chercher à avoir une estimation d'autres paramètres nécessitant des moniteurs (Tremoleda and al. 2012).

La surveillance de l'appareil respiratoire peut être basée premièrement sur les observations cliniques mais aussi par le suivi des paramètres respiratoires via des systèmes de monitoring :

- Le capnographe permet d'avoir accès à une représentation graphique des variations de la concentration en CO<sub>2</sub> dans les gaz respiratoires en utilisant la spectrophotométrie d'absorption infrarouge préférentiellement. Via ce monitoring, la concentration en CO<sub>2</sub> dans l'air inspiré et expiré est mesurée. La mesure du CO<sub>2</sub> dans l'air expiré permet une évaluation directe des variations de l'élimination du CO<sub>2</sub> à partir des poumons, ainsi que sa production tissulaire et son transport par le système circulatoire. Il peut donc détecter précocement des incidents critiques, ce qui fait de lui un monitoring intéressant au cours d'un arrêt circulatoire. Figure 4
- L'oxymétrie de pouls permet d'obtenir de manière fiable et non invasive la mesure de la saturation pulsée de l'hémoglobine en O<sub>2</sub> (SpO<sub>2</sub>) en mesurant le pourcentage de saturation d'hémoglobine dans le sang : si celle-ci tombe en dessous de 80%, des mesures correctives afin d'améliorer l'oxygénation doivent être mises en place. Le détecteur se place chez les rongeurs au niveau de l'extrémité de la patte, du cou chez la souris ou de la queue chez le rat. Cet appareil permet l'évaluation de plusieurs paramètres tels que : oxygénation artérielle, saturation, fréquence cardiaque, fréquence respiratoire... Figure 5
- La mesure des gaz du sang est le « gold standard » pour évaluer la fonction respiratoire. Ils permettent d'obtenir la valeur du pH déterminé par la concentration en HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (mise en évidence des désordres électrolytiques), la PO<sub>2</sub> (évaluation de l'oxygénation sanguine) et la PCO<sub>2</sub> (constante en temps normal). L'analyse des gaz du sang demande des connaissances précises sur la physiologie rénale et pulmonaire et n'est pas aisée à mettre en place sur les rongeurs.

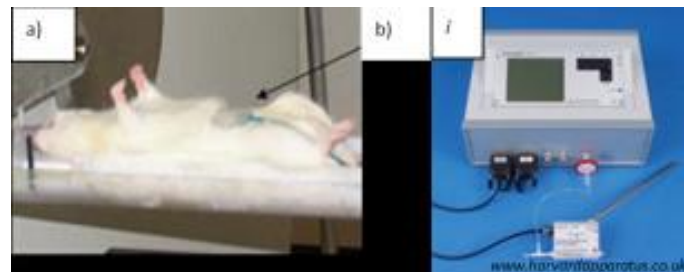


Figure 4 : Capnographe (Tremoleda and al. 2012)

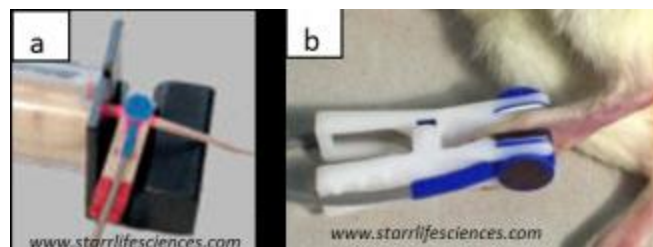


Figure 5 : Oxymétrie de pouls (Tremoleda and al. 2012)

En ce qui concerne l'appareil cardio-vasculaire, nous pouvons surveiller la fréquence cardiaque, le pouls, le temps de remplissage capillaire, la couleur des muqueuses. Afin

d'avoir une valeur de ces paramètres à tout instant, nous pouvons nous aider de différents outils :

- L'électrocardiographe : cet appareil donne accès via des électrodes à pinces ou sous-cutanées, à l'activité électrique du cœur et à la fréquence cardiaque par déduction, mais n'informe pas sur la circulation sanguine ou la fonction mécanique. Figure 6 : ECG

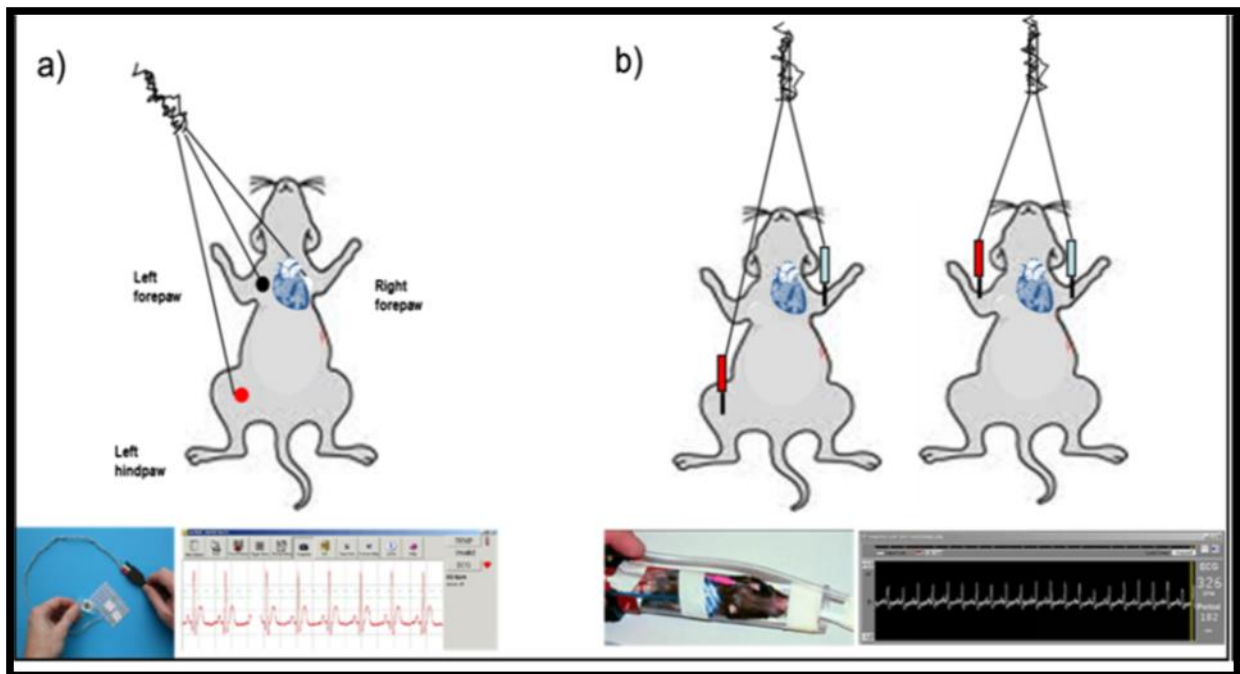


Figure 6 : ECG (Tremoleda and al. 2012)

- L'oxymétrie de pouls : comme nous l'avons vu précédemment, nous mesurons l'oxygénation artérielle ce qui peut nous permettre de mettre en évidence une hypoxie due à une hypoventilation, une obstruction des voies respiratoires.

La pression artérielle est la valeur la plus fiable pour évaluer le système cardiovasculaire pendant une anesthésie, soit l'estimation de la bonne perfusion tissulaire. Nous pouvons distinguer deux techniques :

Figure 7

- Directe : mise en place d'un cathéter artériel. Cette technique est invasive et implique d'accéder chirurgicalement aux artères carotide ou fémorale.
- Indirecte : via un détecteur au niveau de l'artère de la queue ou en transcutané.



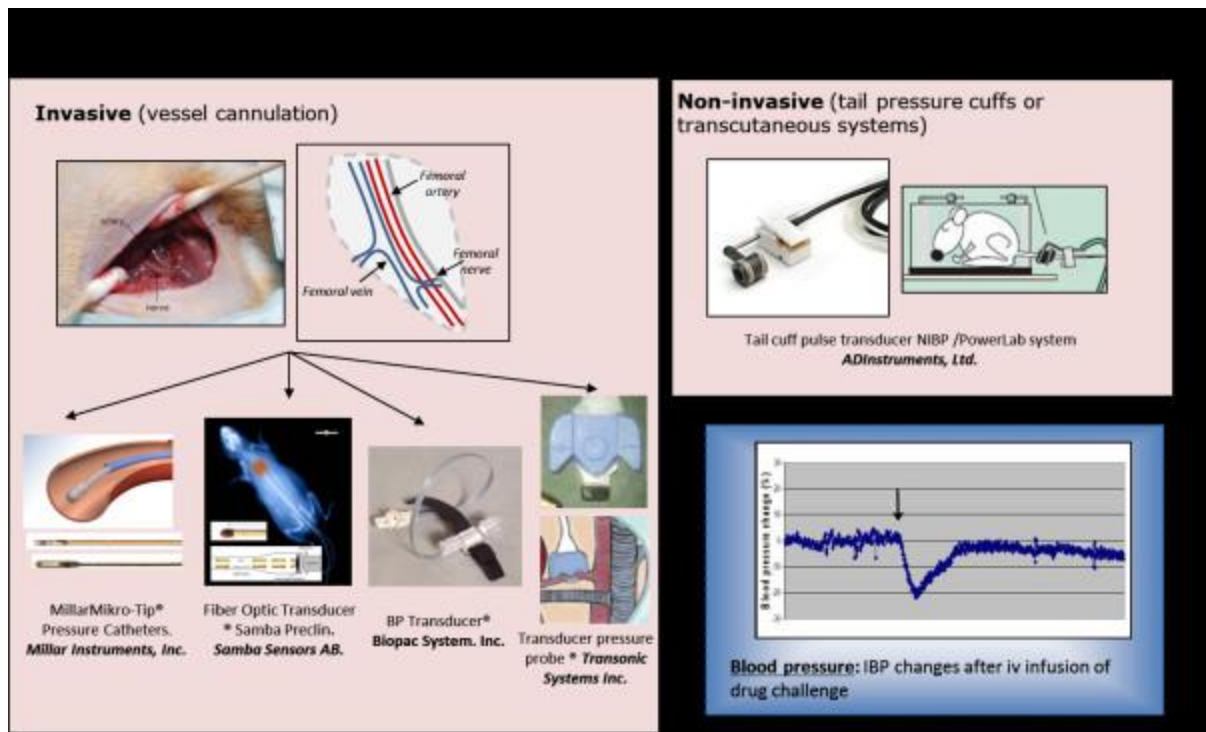


Figure 7 : Mesures de la pression artérielle (Tremoleda and al. 2012)

#### *h Soins per et postopératoires*

Lors d'une anesthésie de qualité, le retour à un état physiologique normal doit être le plus rapide possible après le réveil. La reprise normale du comportement, de l'abreuvement et de l'alimentation sont des éléments essentiels. Il peut être nécessaire de faciliter la reprise alimentaire en utilisant des aliments humidifiés, voire un nutriment plus appétant. L'hydratation doit également être encouragée, voire suppléée en fonction des pertes liquidiennes, en per et post-opératoire (injection sous cutanée de sérum physiologique ou Ringer, sur une base de 10ml/kg/heure de chirurgie).

Pour cela, la température est le premier paramètre à contrôler : l'animal est placé dans une couveuse (27-30°C pour les adultes et 35-37°C pour les nouveaux nés) tout en vérifiant qu'il ne soit pas brûlé ; ce qui implique un monitoring à la fois des températures de la couveuse et de l'animal. Par la suite, une surveillance biquotidienne est recommandée afin d'observer le réveil, la prise alimentaire, les sécrétions au niveau des yeux/du nez/de la bouche/de la plaie. Celle-ci permet via une connaissance du comportement de l'espèce de détecter une douleur et de mettre ainsi en place une analgésie adéquate maintenant un bien être satisfaisant. Les animaux peuvent avoir une activité nocturne, d'où l'utilité d'avoir un système de caméra en place.

En effet, via l'observation régulière des animaux, il est relativement aisé de détecter une douleur. (Flecknell, 2009)

- Activité diminuée : grimper, gratter, uriner, déféquer...
- Apparence : isolement dans un coin, le dos voussé, absence de toilettage, présence de porphyrine (marque de stress), baisse du comportement exploratoire...
- Comportement : changement soudain (agressif)...
- Vocalisations : elles sont souvent inaudibles pour l'humain chez les rongeurs.

- Habitudes alimentaires : consommation diminuée (eau et aliment). Il est possible de peser les aliments ainsi que l'animal pour surveiller ce qu'il ingère.

Une fois la douleur identifiée puis évaluée, un traitement adapté peut être mis en place. (Annexes 3 et 8)

### 3 Choix d'une procédure d'anesthésie de rongeurs

#### 3.1 Protocoles recommandés et protocoles réellement appliqués

Une étude a recensé récemment les protocoles d'analgésie et d'anesthésie des rongeurs de laboratoire décrits dans des articles scientifiques publiés entre 2000-2001 et entre 2005-2006 (Stokes, Flecknell, & Richardson, 2009). Dans cette étude réalisée à partir de la base de données bibliographique ScienceDirect, 86 articles ont été sélectionnés à chaque période, correspondant à des actes chirurgicaux sous anesthésie générale chez le rat ou la souris, avec une période de soins post-opératoire d'au moins 24 heures.

Du côté de l'anesthésie, l'emploi du pentobarbital est en baisse : 33% en 2000-2001 contre 16% en 2005-2006 ; à l'inverse l'isoflurane et l'association kétamine/xylazine sont en hausse : respectivement 2% contre 16% et 15% contre 31%.

L'administration d'une analgésie est de plus en plus effectuée : 3% en 1990-1992, et 10 et 20 % respectivement en 2000-2001 et 2005-2006. On note une augmentation de l'utilisation d'analgésiques systémiques de 10% en 2000-2001 et de 20% en 2005-2006. En contrepartie, l'emploi des anesthésiques locaux est en baisse. Dans les deux cas, l'analgésique le plus utilisé est la buprénorphine : 78% en 2000-2001 et 35% en 2005-2006. Parallèlement, une augmentation de l'emploi des AINS est notée (de 11 à 53 %). Néanmoins, l'analgésie multimodale reste peu voire pas utilisée. Figure 8

Enfin, cette étude a mis en évidence une diminution du nombre d'animaux utilisés dans les protocoles : ce qui répond aux critères des « 3R ».

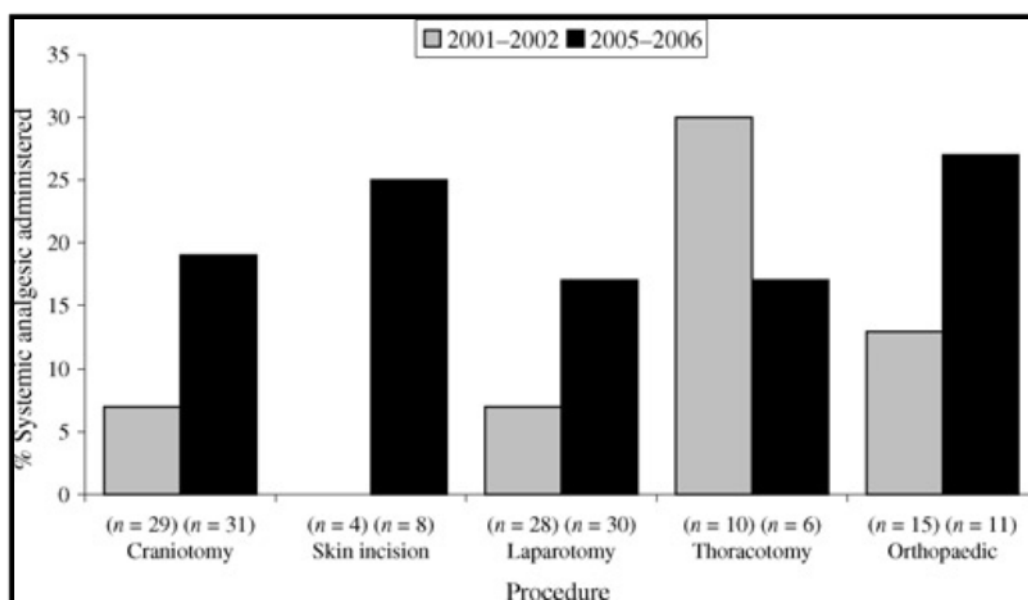


Figure 8: Utilisation d'une analgésie en fonction du geste chirurgical réalisé (Stokes, Flecknell, Richardson, 2009)

Avec l'aide du Dr Grézel, nous avons effectué une étude du même type pour analyser les pratiques courantes en 2010 d'anesthésie en l'absence de chirurgie (à des fins d'immobilisation, prélèvements...). En effet, l'étude publiée par Stokes et coll. analyse l'évolution des pratiques, mais se limite à une vingtaine de journaux à fort facteur d'impact, et à des protocoles qui comprennent une chirurgie.

Nous retrouvons bien l'isoflurane ainsi que l'association kétamine/xylazine de manière prépondérante ; en effet, respectivement 36% et 20% chez la souris et 42% et 32% chez le rat. Nous trouvons encore dans cet échantillon l'utilisation – rare- de protocoles non recommandés, tels que l'éther ou le chloral. Figure 9

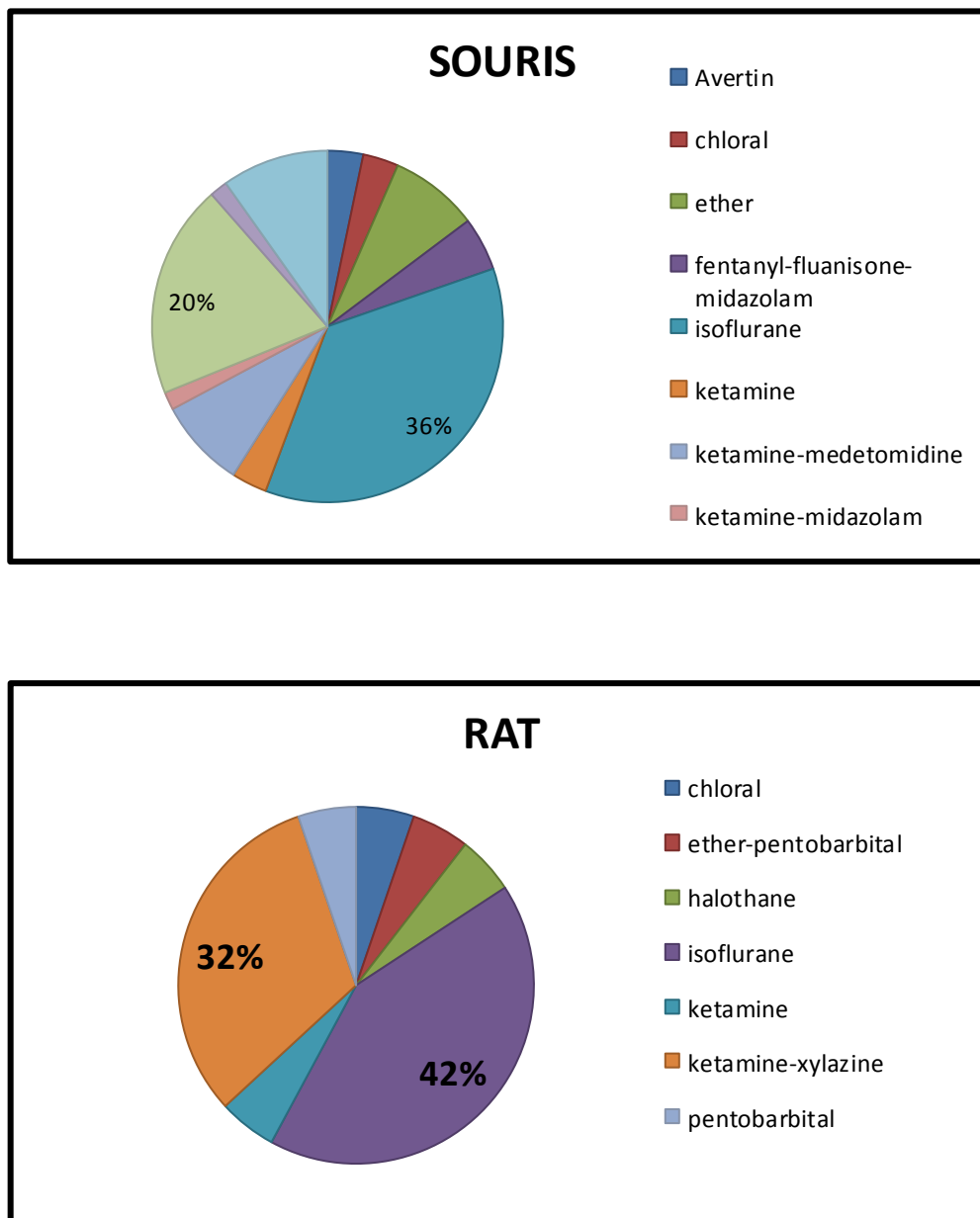


Figure 9: Protocoles d'anesthésie décrits dans la littérature (travail personnel)

Comme les protocoles publiés ne représentent qu'une partie des procédures utilisant des animaux nous avons également effectué, avec l'aide du Dr Grézel, un sondage rapide auprès de la communauté francophone des expérimentateurs, par le biais de la liste de diffusion

ANILAB. La liste ANILAB : liste francophone de discussions et d'échanges sur les sciences et les techniques de l'animal de laboratoire, est accessible depuis le site de l'Afstal (Association française des sciences et techniques de l'animal de laboratoire) ; elle comprend environ 500 abonnés. Nous avons soumis aux abonnés à cette liste en juin 2010 un questionnaire publié sur Internet (Google Docs), auquel nous avons obtenu 107 réponses. Le résultat de ce sondage a ensuite été diffusé aux abonnés, en le comparant à l'étude publiée par Stokes et coll. et notre propre étude bibliographique. Ce sondage nous a permis de répertorier les protocoles anesthésiques et analgésiques réalisés en France dans différentes situations sur le rat ou la souris (Figure 10 et Figure 11):

- contention : prise de sang, biopsies...
- petite chirurgie : pose de cathéter...
- chirurgie importante : transplantation de peau, réimplantation d'embryons...
- anesthésie avec euthanasie terminale (sans réanimation)

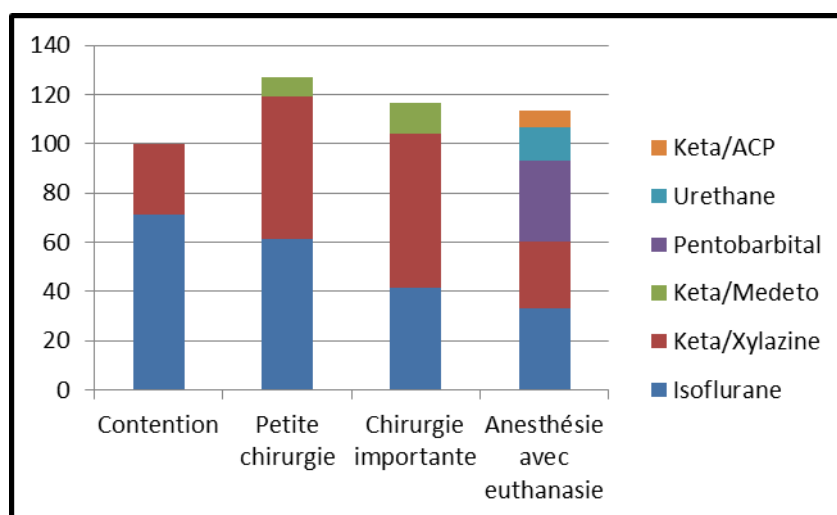


Figure 10: Protocoles anesthésiques (Sondage mai 2010- Anilab)

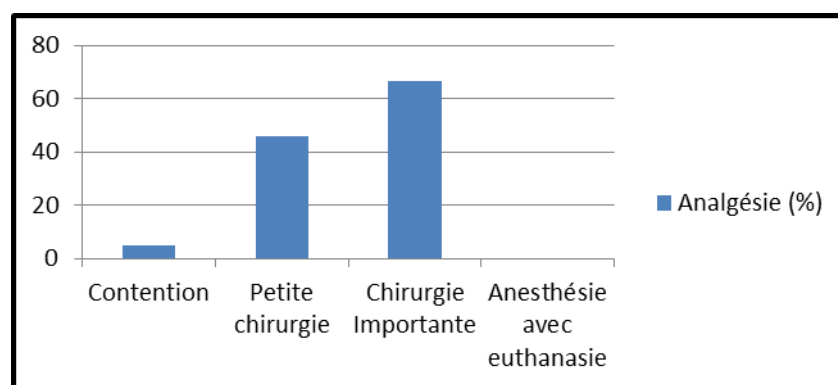


Figure 11: Analgésie (Sondage mai 2010-Anilab)

Ce sondage confirme les préférences pour les deux protocoles anesthésiques : isoflurane et kétamine/xylazine. Cependant, en cas d'euthanasie à la fin de l'expérience, les protocoles sont plus variés avec une place importante du pentobarbital et une absence de protocole analgésique parallèle. Nous pouvons voir que dans seulement 28 % des cas, une analgésie

est mise en place. Celle-ci est corrélée à l'importance du geste réalisé : contention < petite chirurgie < chirurgie importante. Lorsqu'une analgésie est instaurée dans le protocole, des morphiniques sont utilisés dans 50% des cas, des AINS dans 41 % et enfin, une anesthésie locale est employée dans 9%.

Nous pouvons donc constater face à cet aperçu qu'il n'y a de moins en moins d'écart entre les protocoles conseillés et ceux appliqués. Les différences s'expliquent soit par l'absence d'équipement soit par un défaut de connaissances face aux avancées de l'anesthésie, donc à un manque de formation continue. En ce qui concerne le défaut de matériel, il est clair que la mise en place d'un système d'anesthésie volatile représente un investissement qui n'est pas facilement accessible. Il est donc important d'évaluer les avantages et les inconvénients de l'anesthésie injectable et volatile. Tableau VII : Comparaison des deux types d'anesthésie (Travail personnel)

Tableau VII : Comparaison des deux types d'anesthésie (Travail personnel)

	<b>Anesthésie volatile</b>	<b>Anesthésie injectable</b>
<b>Avantages</b>	<p>Excellente qualité d'anesthésie, y compris bonne valence analgésique</p> <p>Contrôle de la profondeur et de la durée : adaptabilité à des procédures variées</p> <p>Rapidité et qualité du réveil</p> <p>Facilité d'utilisation</p>	<p>Qualité d'anesthésie et d'analgésie variable (souvent médiocre avec un seul agent, meilleure avec une combinaison d'agents)</p> <p>Mise en œuvre simple, sans matériel particulier, lorsque les procédures sont bien définies</p> <p>Coût modéré (variable selon l'agent)</p>
<b>Inconvénients</b>	<p>Nécessité d'un équipement d'anesthésie dans chaque pièce d'expérimentation</p> <p>Mise en œuvre délicate lors d'intervention sur la tête</p> <p>Coût élevé (machine et produit)</p> <p>Problème d'hygiène et sécurité (ventilation...)</p>	<p>Difficulté de contrôle de la profondeur et de la durée</p> <p>Risque de surdosage</p> <p>Réveil différé</p>

### 3.2 Interférence des anesthésiques avec la recherche

De nombreux paramètres peuvent interférer avec les résultats et la bonne conduite d'une expérience: Figure 12

- Facteurs associés aux soins et à la manipulation des animaux
- Facteurs physiques et environnementaux
- Facteurs associés aux manipulations en recherche
- Facteurs associés à l'animal

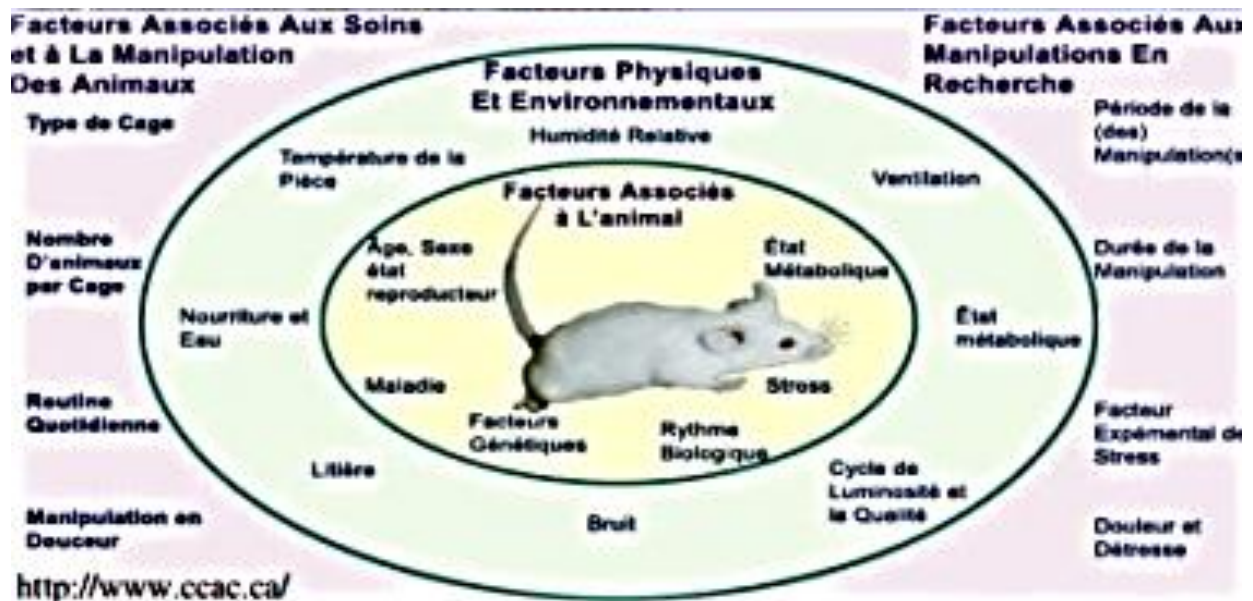


Figure 12: Facteurs influençant les expériences (CCAC)

De manière générale, on peut regretter que de nombreux laboratoires ne réfléchissent pas assez aux interactions de leur protocole anesthésique avec leurs résultats. Ils réalisent leur protocole de manière automatique en utilisant les recettes d'anesthésie traditionnelle (Stokes, Flecknell, & Richardson, 2009).

En effet, les anesthésiques en eux-mêmes ou alors leurs effets secondaires peuvent influencer et modifier les résultats. (Bazin, Constantin, Gindre, 2004)

Cependant, dans la littérature, trop peu de publications s'attardent sur les possibles interférences entre leurs résultats et l'emploi de leur protocole anesthésique. Il est de plus difficile de réaliser des extrapolations entre les différentes espèces ou avec l'homme en matière d'effets secondaires des anesthésiques. De plus, des contradictions peuvent apparaître entre ce qui est observé *in vitro* et sur l'animal entier : la même molécule peut réagir différemment au sein d'organes différents voir d'un modèle à l'autre.

Prenons tout d'abord l'exemple de la kétamine : au sein d'un animal, cette molécule provoque une stimulation sympathique entraînant une augmentation de la pression artérielle ; étudiée *in vitro*, elle permet une vasodilatation avec une relaxation du muscle lisse vasculaire. L'étomidate quant à lui entraîne une vasodilatation de la microcirculation musculaire (crémaster et diaphragme) et à l'inverse une vasoconstriction de la microcirculation cérébrale et des artères pulmonaires.

De même, en fonction de l'emploi d'une molécule anesthésique seule ou en association, nous n'observerons pas les mêmes réactions. Citons de nouveau la kétamine : ses effets cardio-vasculaires disparaissent lors d'utilisation simultanée de benzodiazépine ou de barbiturique.

Les agents anesthésiques présentent évidemment des effets secondaires au niveau physiologique et provoquent donc des modifications au niveau cardio-vasculaire, respiratoire, neurologique et immunologique. En effet, comme nous l'avons vu, l'anesthésie entraîne une hypoventilation, une hypotension et une hypothermie qui se doivent d'être contrôlées afin de pouvoir analyser les résultats objectivement. L'hypercapnie est une des conséquences des effets secondaires. Celle-ci est provoquée par une hypoventilation et une baisse de la pression artérielle. Lorsque l'on utilise des morphiniques, on note une chute de

la pression artérielle systémique puis une vasodilatation cérébrale et donc une augmentation de la pression intracrânienne. Cependant, si la pression artérielle est correctement surveillée et contrecarrée avec une injection d'alfentanyl, on ne notera pas d'élévation de la pression intracrânienne. De même, si la ventilation est contrôlée, il n'y aura pas d'élévation de cette pression.

Des interférences peuvent aussi être rencontrées lorsque les résultats sont enregistrés pendant l'anesthésie. Une étude de HAYTON et al, en 1999, compare les effets de quatre agents anesthésiques sur les études de potentiels évoqués chez le rat par stimulation du membre antérieur et postérieur : kétamine-xylazine, médétomidine, isoflurane, fentanyl/fluanisone-midazolam. Ils recherchent l'agent anesthésique qui aura le moins d'effets sur les paramètres étudiés ainsi que sur le bien-être de l'animal, et qui soit reproductible. Les potentiels évoqués sont influencés par les propriétés hypnotiques des anesthésiques. Il s'avère que le protocole fentanyl/fluanisone-midazolam présente le moins d'interférences avec les mesures contrairement à l'isoflurane et à la médétomidine qui entraînent une augmentation de la latence ainsi qu'une diminution de l'amplitude des réponses. (Hayton, Kriss, & Muller, 1999)

Cependant, même si les résultats sont relevés après l'anesthésie, il peut exister des effets indésirables. COMMISSARIS et al en 1982 ont mené une étude sur la demi-vie du pentobarbital chez le rat. Un groupe de rats est traité de façon chronique avec du pentobarbital : injection intra-péritonéale et distribution d'aliment contenant du pentobarbital pendant 6 jours consécutifs. Un autre groupe de rats reçoit une injection de pentobarbital à 20 mg/kg. La demi-vie du pentobarbital dans le premier groupe représente 12% de celle du second groupe : 18 minutes contre 150. Cette étude met en évidence des effets d'induction enzymatique. En effet, le pentobarbital est un inducteur enzymatique c'est-à-dire qu'il stimule les enzymes du foie intervenant dans le métabolisme et donc accélère celui-ci. Il peut donc diminuer l'efficacité d'une molécule administrée simultanément en l'éliminant plus vite ou alors augmenter l'effet indésirable de celui-ci en accélérant et augmentant la quantité de métabolites provenant de sa dégradation.

En définitive, choisir un protocole anesthésique qui interfère le moins possible avec les résultats que l'on recherche, semble être la partie la plus délicate dans le choix des molécules.

C'est pourquoi, tout nouveau modèle expérimental se devrait en toute rigueur de comparer ses résultats avec différents protocoles anesthésiques avant d'être validé.

Ce sont principalement les études réalisées par des anesthésistes qui vont se soucier plus particulièrement de l'impact du protocole choisi sur le modèle expérimental ; les chercheurs quant à eux vont avoir tendance à considérer l'anesthésie au même titre que la contention ou les prélèvements.

Cette première partie met en avant les caractéristiques d'une anesthésie de bonne qualité ainsi que son rôle indispensable au sein de l'expérimentation animale. Cependant, nous avons pu voir qu'une partie des expérimentateurs utilise des « recettes » en matière de protocole anesthésique sans forcément l'adapter à l'individu, au geste, à l'âge etc. Des anesthésiques mal choisis peuvent provoquer des interférences au sein de l'expérience et fausser les résultats.

Il semble donc important de travailler sur la notion d'anesthésie adaptée et d'apporter une formation plus complète dans ce domaine aux différents manipulateurs en expérimentation animale.

## **DEUXIEME PARTIE : ENSEIGNEMENT EN ANESTHESIE A DESTINATION DES EXPERIMENTATEURS : MISE EN PLACE DE TRAVAUX PRATIQUES**

Au cours du cursus vétérinaire, plusieurs enseignements sont consacrés à la protection des animaux : sauvages, domestiques, fermiers et de laboratoire. En particulier, le module intitulé « Démarche expérimentale et essais cliniques » a pour objectif de faire comprendre aux étudiants vétérinaires les enjeux et les modalités de la recherche avec les animaux de laboratoire et lors des essais cliniques des médicaments vétérinaires. Le module aborde les aspects réglementaires et éthiques, les méthodes de conception et d'interprétation statistique des expériences et les principales recommandations concernant l'utilisation des animaux de laboratoire. Au-delà de ce module, un enseignement optionnel « niveau 1 pour les étudiants vétérinaires » est proposé, que j'ai suivi en 2010-2011.

Ces enseignements m'ont permis d'appréhender le monde de l'animal de laboratoire plus précisément, et de participer à une formation au sein de laquelle les travaux pratiques d'anesthésie ont une place importante. En participant aux différentes séances de travaux pratiques ou dirigés, j'ai pu discuter avec des personnes effectuant des expériences avec les animaux de laboratoire et des responsables de formations qui leur sont destinées.

Il est apparu que la notion d'anesthésie méritait d'être développée au-delà des bases théoriques ; c'est pourquoi l'idée de concevoir une séance d'enseignement pratique pour mieux appréhender les critères de choix d'une procédure et les modalités de mise en œuvre d'une anesthésie a vu le jour.

Dans cette partie, après une brève introduction sur l'organisation des formations en expérimentation animale, nous évoquerons nos expériences et nos travaux pour contribuer à la mise en place de cet enseignement pratique sur l'anesthésie des rongeurs. Un premier protocole a été conçu puis testé. Au cours des années 2011 et 2012, j'ai pu assister à plusieurs séances d'enseignement pendant lesquelles j'ai effectué des observations et discuté avec les formateurs et les stagiaires, afin de déterminer leurs attentes, leurs connaissances dans le domaine et leurs réactions. Un bilan de ces séances a été réalisé.



## 4 Organisation générale des formations en expérimentation animale en France

---

Nous avons vu dans la première partie de ce travail que la réglementation européenne, depuis la Directive CEE86/609, impose des formations aux personnes travaillant avec des animaux de laboratoire. La réglementation française qui en découle depuis 1987 a mis en place ces formations obligatoires. Cette réglementation a été actualisée en application de la directive européenne UE10/63 depuis le 1<sup>er</sup> février 2013.

### *Les formations : exigences réglementaires et éthiques*

D'après le décret 2013-118 et les 5 arrêtés du 1<sup>er</sup> février 2013, le cadre réglementaire de toute utilisation d'animaux de laboratoire est défini par :

- Conditions d'approvisionnement des animaux (élevages agréés)
- *Agrément des établissements d'expérimentation animale (EEA)* : les établissements doivent disposer de locaux adaptés, de personnels formés, et mettre en œuvre des modalités adaptées d'hébergement et d'entretien des animaux. Un vétérinaire intervient dans chaque EEA.
- Autorisation par projets : tout projet fait l'objet d'une évaluation éthique par un comité d'éthique en expérimentation animale agréé par arrêté du ministre chargé de la recherche.
- Exigences d'acquisition et d'entretien des compétences : la qualification du personnel résulte de la formation initiale, de leur participation à une formation spécifique à l'expérimentation animale effectuée au plus tard dans l'année suivant la prise de poste et de leur formation continue. De plus, le personnel est supervisé dans ses tâches par un tuteur possédant les qualifications et l'expérience nécessaires jusqu'à qu'il ait démontré ses compétences.
- Responsable du suivi des compétences au sein de chaque établissement : un responsable sera désigné pour vérifier la qualification du personnel dans les différents domaines : conception des procédures et projets, application des procédures, soins aux animaux, euthanasie.
- Conditions particulières pour l'acquisition et l'utilisation des médicaments en expérimentation animale

Nous utiliserons dorénavant les termes de « responsables d'expériences » (concepteurs de projet), « techniciens », « animaliers » et « personnes chargées de la mise à mort des animaux » (ces activités correspondent à des emplois et des missions très variées selon les établissements). Tableau VIII: Exigences relatives aux personnes utilisant des animaux de laboratoire au sein d'un établissement utilisateur (expérimentation ou élevage) à partir de 2013 (d'après l'arrêté du 1/02/2013).

Tableau VIII: Exigences relatives aux personnes utilisant des animaux de laboratoire au sein d'un établissement utilisateur (expérimentation ou élevage) à partir de 2013 (d'après l'arrêté du 1/02/2013).

Activité	« Responsable d'expériences » : personne concevant, dirigeant des expériences	« Technicien » : personne effectuant des gestes expérimentaux sur les animaux	« Animalier » : personne chargée de l'hébergement et de l'entretien des animaux
<b>Gestes expérimentaux autorisés sur les animaux</b>	Définis par le livret de suivi individuel des compétences (examens, administrations, prélèvements, chirurgie, euthanasie...)		Aucun
<b>Evaluation par les autorités</b>	Certificats de formation inclus dans un livret de suivi individuel des compétences compris dans le dossier d'agrément de l'établissement utilisateur. La formation doit être entreprise dans l'année de prise de poste.		
<b>Formation initiale minimale</b>	Etudes supérieures en Biologie (Bac+5) ou équivalent (Docteur vétérinaire, Pharmacie..). Dérogations non définies encore	Pas d'exigence (en pratique, de nombreux techniciens ont une formation en biologie Bac+2).	
<b>Formation exigée en Expérimentation animale</b>	- « niveau 1 » (modalités et durées non définies encore)	- « niveau 2 » (modalités et durées non définies encore)	- « niveau 3 » (modalités et durées non définies encore)
	Formation à la mise à mort des animaux (cas échéant) Formation spécifique au domaine d'activité (cas échéant) : formation à la chirurgie expérimentale, formation en primatologie... Formation continue (3 jours par 6 ans)		

Les formations à l'expérimentation animale prévues par la réglementation actuelle n'ont pas pour objectif d'être des formations professionnelles, ce qui serait impossible étant données leur courte durée et la diversité des attentes des stagiaires ; elles visent à « assurer le bien-être des animaux et à éviter les mauvais traitements et les utilisations inutiles ». La *Commission Nationale à l'Expérimentation Animale* (CNEA) évalue sur dossier le contenu pédagogique des formations (18 thèmes imposés pour le niveau 1), les modalités d'évaluation des stagiaires et les modalités des enseignements pratiques avec des animaux.

Les autorités en charge du contrôle de l'expérimentation animale sont la *Commission Nationale à l'Expérimentation Animale* et les Préfets dans chaque Département. La CNEA comprend des fonctionnaires des Ministères de l'Agriculture (en charge de la santé animale et de la protection animale) et de la Recherche et de l'Enseignement Supérieur, des représentants du secteur professionnel et des représentants d'associations de protection animale. La CNEA a pour missions principales de conseiller les Ministères sur la réglementation et d'approuver les formations obligatoires en expérimentation animale (Niveaux 1 à 3 et formation à la chirurgie).

En pratique, ce sont les inspecteurs du *Bureau de la Protection Animale* de la *Direction Départementale de la Protection des Populations* qui exercent le contrôle des agréments et des autorisations nominatives d'expérimenter. Ils vérifient donc que chaque personnel au sein d'un EEA a suivi la formation obligatoire adaptée à son activité.

L'évolution réglementaire issue de la nouvelle Directive UE10/63, applicable en France à partir de 2013, conforte l'exigence de formation : outre une formation obligatoire dès la prise de fonction, elle impose un suivi individuel des compétences et une formation continue. L'accent est mis sur les compétences plutôt que sur les connaissances, ce qui nécessite de vérifier l'adéquation effective de la formation avec les missions réalisées.

## **5 L'enseignement d'anesthésie dans les formations obligatoires**

---

L'anesthésie est un thème imposé dans les formations de niveau 1 et 2 : la plupart des formations y consacrent environ 2 heures de théorie et une courte initiation pratique (communication personnelle Dr Grézel).

### **5.1 Connaissances attendues**

Dans le temps imparti, il est évident que cet enseignement n'a pas vocation à transformer les stagiaires en vétérinaires ou en anesthésistes accomplis. L'objectif est de faire comprendre les notions élémentaires pour permettre aux expérimentateurs de réaliser des protocoles définis avec une prise en charge satisfaisante de l'anesthésie :

- objectifs et produits de l'anesthésie
- effets et risques de l'anesthésie
- conduite et évaluation d'une procédure anesthésique
- s'ajoute pour le niveau 1 : choix d'une procédure anesthésique

En février 1994, N.Chapuis-Lucciani et P.Lucciani ont tenté d'apporter une classification des actes nécessitant une formation à la chirurgie, en distinguant 4 types d'activités (Université d'Alexandrie, Egypte) :

- A- Interventions où une anesthésie n'est pas requise (gestes peu ou pas invasifs)
- B- Protocoles d'examens et de soins superficiels réalisés sous anesthésie mais ne nécessitant pas de suivis post-opératoires et n'engendrant pas de déficit organique ou fonctionnel majeur.
- C- Interventions chirurgicales, définies par la présence d'une anesthésie locale/régionale ou générale, la nécessité d'une préparation opératoire, des connaissances techniques précises ainsi que l'existence d'un suivi post-opératoire.
- D- Interventions sur animal sous anesthésie profonde suivi d'euthanasie, qui ne sont pas considérées comme un acte chirurgical.

Plusieurs exemples d'interventions ont été étudiés : les ponctions intracavitaires, les prélèvements sanguins aux veines périphériques, les ponctions cardiaques chez les rongeurs, les cathétérismes, les canulations des vaisseaux périphériques, les poses de drains, les biopsies simples, les sutures sur plaies superficielles, la mise en place d'électrodes en plan

sous-cutané ou musculaire, toutes sortes d'injections (IV, SC, IM). Enfin, dans les interventions chirurgicales, ont été distinguées les « petites chirurgies » et les « chirurgies lourdes ». En fait, cette classification a suscité de nombreuses polémiques et, malgré sa persistance dans de nombreuses réflexions, n'a pas donné lieu à un document officiel.

En fait, il faut considérer que la formation à la chirurgie, et par extension celle à l'anesthésie, est nécessaire aussi bien pour les responsables d'expériences que pour les techniciens :

- afin de respecter le bien-être animal (prise en compte de la douleur, techniques adaptées, réduction des complications).
- afin de ne pas interférer avec les résultats des expériences.

En 2008, le GIRCOR, dans le *Guide de l'évaluation éthique des protocoles*, a décrit les qualifications attendues en matière d'anesthésie pour les responsables d'expérience. En effet, pour effectuer l'évaluation éthique d'un protocole, l'expérimentateur doit évaluer le degré de douleur ou de souffrance que son étude peut apporter mais aussi indiquer les mesures prises en charge pour les réduire. Ceci implique donc l'acquisition de compétences particulières :

- Connaissances sur les produits utilisés en matière d'anesthésie et d'analgésie sur l'espèce utilisée.
- Détermination et reconnaissance des stades de l'anesthésie
- Les phases de réveil
- Les signes de douleur
- Conduite à tenir en cas de surdosage ou de réveil

Ces points impliquent de connaître les réactions des animaux que le protocole utilise et donc d'avoir une formation pratique pour assimiler ces notions et être capable de vérifier leur bon déroulement et de pouvoir les corriger.

## 5.2 Public concerné

Le public concerné par les formations à l'anesthésie est très hétérogène (communication personnelle Dr Grézel) :

- les formations de niveau 1 accueillent à la fois des diplômés en biologie de niveau Bac  $\geq$  4 (qui ont souvent de bonnes connaissances en physiologie mais pas de connaissance médicale), des vétérinaires, des médecins, et des personnes qui – par le processus de dérogation – n'ont pas une formation supérieure en biologie.
- Les formations de niveau 2 accueillent à la fois des personnes dont le cursus de formation est très adapté à l'expérimentation animale, parfois à un niveau Bac+2 ou Bac+3, et des personnes qui n'ont aucune connaissance théorique en biologie.
- ces deux types de formation accueillent en général à la fois des personnes en formation initiale (étudiants ou débutants) et des personnes en formation continue qui ont une solide expérience professionnelle. Les premiers ont des connaissances théoriques dont ils n'envisagent pas les applications, et les seconds peuvent manquer des bases théoriques pour des activités qu'ils pratiquent au quotidien.

L'hétérogénéité est bien sûr une difficulté dans ces formations, surtout en ce qui concerne la mise à niveau théorique. Cependant on constate généralement que le niveau général profite d'une bonne dynamique de groupe et d'échanges lorsqu'on a affaire à de petits effectifs de formation.

### **5.3 Exemple de la formation « niveau 1 – Bonnes pratiques en Expérimentation / Lyon »**

Au cours de notre travail de thèse, nous nous sommes intéressés principalement à la formation « *niveau 1 – Bonnes pratiques en Expérimentation proposée en partenariat par VetAgro Sup et par l'Université de Lyon 1* ». Il s'agit d'une formation agréée par la CNEA depuis 1992, et accréditée par la Fédération Européenne des Associations en Sciences des Animaux de Laboratoire, FELASA. FELASA effectue un travail important d'harmonisation et de promotion des meilleures pratiques en expérimentation animale : à ce titre, elle publie de nombreuses recommandations, concernant en particulier les formations (FELASA 1995, Guillen 2012). Un système d'accréditation permet de reconnaître au niveau européen les formations qui respectent ces recommandations.

La formation présente les caractéristiques suivantes :

- Durée et organisation conforme aux exigences réglementaires (80 heures), dont 3 heures de cours théoriques sur la douleur (physiopathologie, évaluation, traitement, prévention), une heure de TD sur l'évaluation de la douleur chez le rat à l'aide de vidéos, et 3 heures de cours théoriques sur l'anesthésie.
- Effectif par session d'environ 30 personnes composée pour moitié d'étudiants et pour moitié de personnes en formation continue (prérequis correspondant aux exigences réglementaires pour demander l'autorisation nominative d'expérimenter). En général, la formation comprend  $\frac{3}{4}$  de personnes qui ont déjà une bonne expérience des animaux de laboratoire et  $\frac{1}{4}$  de débutants.
- 2 journées pleines de travaux pratiques, organisées chacune pour 2 groupes de 16 pour les enseignements pratiques (2 à 3 encadrants par groupe).
- Enseignements assurés par des intervenants spécialisés (en l'occurrence, l'enseignement d'anesthésie est réalisé par le Dr Stéphane Junot, DVM Diplômé du *Collège Européen d'Anesthésie vétérinaire*).
- 2 sessions par an : la première se déroule en Octobre et est destinée au MasterPro « *Bioexpérimentation Animale* ». La seconde a lieu en Mai-Juin et vise les doctorants des Ecoles Doctorales de Lyon.

Jusqu'en 2010, les travaux pratiques comprenaient en fait 6 activités successives :

- Recommandations générales toutes espèces : identification, contention, hébergement, entretien (à l'université de Lyon)
- Principes de manipulation, d'administrations de substances et de prélèvements sanguins chez le lapin, le rat et la souris (à l'université de Lyon)
- Démonstration chez le chien d'un examen clinique et d'une anesthésie volatile (à VetAgro Sup). A noter que le chien faisait partie de l'effectif canin permanent, mis à disposition selon une procédure pour éviter des anesthésies trop fréquentes.

- Evaluation de la douleur chez le rat sur vidéos (à VetAgro Sup)
- Travaux pratiques de « petite chirurgie » chez le rat anesthésié (à VetAgro Sup)
- Autopsie du lapin (à VetAgro Sup)

En 2010, les travaux pratiques réalisés à VetAgro Sup ont été placés sous la responsabilité du Dr Grézel, ce qui a amené aux modifications auxquelles j'ai contribué dans le cadre de ma thèse vétérinaire.

#### **5.4 Des lacunes dans cet enseignement**

Avant de mettre en place ce travail, l'anesthésie était abordée dans cette formation de manière totalement différente. La démonstration d'anesthésie chez le chien était considérée comme très intéressante par la plupart des stagiaires car elle avait l'avantage de présenter un grand nombre d'éléments (depuis la prémédication jusqu'au réveil, incluant un respect de l'asepsie des gestes), mais beaucoup se plaignaient de la difficulté de transposition aux rongeurs.

En ce qui concerne la pratique sur rongeurs, le principe était de réaliser des gestes chirurgicaux sous anesthésie générale sans réanimation. Le rat avait été choisi en raison d'une taille adaptée à des exercices de petite chirurgie avec du matériel courant. Les participants se focalisaient sur la technique de chirurgie et ne se souciaient pas de l'aspect anesthésique. Ils ne réfléchissaient pas aux protocoles, ne surveillaient pas la profondeur donc ne pouvaient pas assimiler les notions et caractéristiques de base de l'anesthésie. L'anesthésie pratiquée était en général une anesthésie volatile à l'isoflurane, avec euthanasie par surdosage de pentobarbital.

Dans un premier temps, les expérimentateurs devaient réaliser une trachéotomie. Par la suite, ce sont des cathétérismes de la veine fémorale qui ont été proposés car la technique de trachéotomie s'était avérée trop ambitieuse et finalement assez loin de la pratique quotidienne des personnes présentes.

Ces exercices étaient donc insatisfaisants tant sur le plan de l'anesthésie (absence de réflexion sur le choix et la conduite de l'anesthésie) que sur le plan de la chirurgie (impossibilité de conduire une chirurgie en condition aseptique avec des étudiants novices). Il avait été constaté plusieurs fois des accidents d'anesthésie tels qu'un début de réveil par déplacement de la tête du rat hors du masque sans que les stagiaires s'en rendent compte.

## **6 Mise en place d'un enseignement pratique d'anesthésie des rongeurs**

---

Nous avons voulu revenir à des gestes plus simples, que les participants sont amenés à faire régulièrement afin de focaliser leur concentration sur l'aspect anesthésique. Les travaux pratiques avec les rats ont donc été abandonnés au profit d'une nouvelle séance (ces travaux pratiques persistent dans un enseignement de chirurgie qui est dispensé à des personnes déjà titulaires d'un niveau 1 ou 2).

Le reste de l'enseignement pratique a été peu modifié, hormis :

- la suppression de l'anesthésie chez le chien, considéré de ce fait comme superflue. On peut considérer qu'il s'agit d'un raffinement important de cet enseignement, puisque le chien n'est plus soumis qu'à un examen clinique anodin.
- L'ajout d'un exercice pratique d'asepsie : lavage antiseptique des mains, mise de gants chirurgicaux, préparation d'une zone opératoire sur un mannequin.

J'ai contribué de 2010 à 2012 à l'élaboration et à l'évaluation de cette nouvelle séance d'enseignement : j'ai participé à toutes les étapes de réflexion, effectué des essais, élaboré des documents, assisté à des séances, analysé les formulaires d'anesthésie et les appréciations de formation rendus par les stagiaires.

### **6.1 Les objectifs pédagogiques**

La première étape dans l'élaboration de ces travaux pratiques est de définir les objectifs pédagogiques que l'on souhaite atteindre :

- Etre capable d'utiliser les éléments vus au cours de l'enseignement théorique grâce à une mise en situation sous la supervision d'un encadrement et grâce à un bilan de fin de séance
- Etre capable de pratiquer des gestes expérimentaux simples sur un animal anesthésié, y compris en condition aseptique, tout en effectuant le suivi de l'anesthésie.
- Etre capable de réagir de façon adéquate si l'anesthésie présente des difficultés

La séance se base sur l'enseignement théorique de la formation et sur les recommandations publiées par *l'American College of Veterinary Anesthesiologists* concernant le monitoring. (ACVA, 2009).

Le protocole a été soumis au Comité d'Ethique de VetAgro Sup en avril 2010 : il a fait l'objet d'une discussion sur l'ensemble de la formation, et un avis favorable a été rendu pour une durée de 5 ans.

Le choix de l'espèce souris est justifié par sa grande fréquence d'utilisation, et la possibilité d'illustrer l'ensemble des objectifs pédagogiques.

Le choix des procédures d'anesthésie est basé sur les pratiques usuelles précédemment décrites. Il a fait l'objet de plusieurs réunions préparatoires. Il a été décidé à dessein, afin de sensibiliser les stagiaires :

- de comparer des anesthésies de qualité inégale. La constatation de la mauvaise qualité anesthésique du pentobarbital dissuade les stagiaires d'y recourir par la suite,

la comparaison de deux concentrations kétamine-xylazine fait réfléchir à la conception d'une procédure.

- de procéder à une administration analgésique systématique (en l'occurrence une injection SC de meloxicam) pour insister sur l'importance de la valence analgésique en per et post opératoire.

Le matériel utilisé est volontairement limité à l'essentiel pour illustrer qu'il est possible de conduire chez la souris une anesthésie monitorée même sans grands moyens.

La séance se déroule après l'enseignement théorique et après plusieurs autres exercices pratiques (asepsie, examen clinique, injections sous-cutanée et intra-péritonéale chez les rongeurs, évaluation de la douleur...) de façon à ce que les prérequis soient connus de tous les stagiaires.

#### *a Mise en évidence des qualités d'une bonne anesthésie*

Nous avons vu qu'un décalage était présent entre les recommandations et les pratiques, souvent par manque de formation : c'est une constatation que nous faisons régulièrement au cours des formations, car même si la majorité des 30 stagiaires a déjà pratiqué une anesthésie (au moins durant les enseignements de licence en biologie) près de la moitié ont rencontré des problèmes (reprise de conscience précoce, conservation de reflexes, mortalité..) près du quart ne connaissent qu'une seule procédure et seulement 5-6 stagiaires ont reçu une formation antérieure en anesthésiologie (niveau 2, formation intra-entreprise, vétérinaires...).. Les stagiaires n'ayant jamais observé d'anesthésie volatile sont nombreux.

C'est pourquoi, l'anesthésie faisant partie des notions requises dans les formations sur l'expérimentation animale, nous proposons ici des travaux pratiques visant à montrer les qualités d'une bonne anesthésie, la diversité des protocoles, leurs avantages et inconvénients, afin que les participants puissent à terme concevoir un protocole adapté à leur besoin ou tout du moins avoir une vision critique et objective sur leur pratique et les possibilités d'amélioration.

La conduite d'une procédure d'anesthésie depuis la réalisation du mélange anesthésique jusqu'au réveil met en évidence l'ensemble des éléments à prendre en considération, y compris la valence analgésique.

La comparaison de plusieurs procédures d'anesthésie permet la discussion entre les stagiaires et souligne l'intérêt d'adapter la procédure en fonction du besoin expérimental.

#### *b Bonnes pratiques dans la réalisation de gestes techniques*

La capacité à rester attentif à l'anesthésie tout en réalisant des gestes expérimentaux est essentielle. Les stagiaires doivent effectuer des gestes simples en conditions aseptiques, en différenciant :

- simples prélèvements ou administrations : peau désinfectée (alcool 70 °) de préférence tondu, lavage de mains aseptiques et gants jetables propres, consommables stériles (seringues, aiguilles...), espace de travail propre.
- Gestes invasifs (cathétérisme IV, chirurgie, implantation SC...) : peau tondu et désinfectée (alcool 70° et Vétédine), lavage de mains chirurgical, gants stériles, tenue stérile, consommables et matériels stériles, espace de travail stérile (champs...).



Cet enseignement ne visera pas à former à la chirurgie : des gestes simples et courants dans la pratique quotidienne ont été choisis pour deux raisons principales. Tout d'abord, l'objectif principal de cette séance est d'apprendre à gérer son anesthésie afin que son animal soit dans les meilleures dispositions possibles pour subir des prélèvements ou ne pas interférer avec les résultats de son expérience. De plus, nous avons souhaité montrer des gestes simples et quotidiens que les expérimentateurs doivent maîtriser et réaliser au mieux : injection intradermique, ponction veineuse, injection intra-péritonéale, tatouage, transpondeur...

### *c      Conséquences et risques en anesthésie*

Enfin, nous souhaitons faire prendre conscience aux stagiaires qu'une anesthésie n'est pas anodine et qu'elle peut avoir des conséquences importantes :

- stress
- atteinte physiologique : cardio-vasculaire, respiratoire, métabolique, hypothermie, déshydratation.
- interférences avec les résultats expérimentaux.

La mise en évidence de l'impact physiologique et comportemental de l'anesthésie fait prendre conscience qu'il est nécessaire de peser le pour et le contre de chaque anesthésie, en particulier en tant que moyen d'immobilisation, chez des animaux fragiles ou en cas d'anesthésie répétée.

Pour cela, monitorer son anesthésie est important afin de pouvoir détecter précocement tout problème.

Le système respiratoire peut être surveillé via la fréquence respiratoire, la courbe respiratoire, les muqueuses mais aussi (en fonction du matériel à disposition) l'oxymétrie de pouls, les gaz du sang et les volumes d'O<sub>2</sub> et de CO<sub>2</sub>. Dans notre cas, nous pourrions surveiller les modifications des fréquences et courbes respiratoires. Il est utile de vérifier la fréquence respiratoire avant l'expérience lorsque l'animal est calme si possible afin d'avoir une référence. Celle-ci va avoir tendance à augmenter juste avant l'anesthésie à cause du stress. Une chute d'environ 40% par rapport à la valeur pré-anesthésique présage un problème respiratoire imminent ; même si une baisse de la fréquence respiratoire est normale durant l'anesthésie, des modifications variables auront lieu en fonction de l'agent utilisé, de la profondeur de l'anesthésie, il est donc essentiel de maîtriser son protocole et de savoir observer les modifications physiologiques anormales. Une augmentation de la fréquence respiratoire par exemple montrera un problème au niveau de la profondeur de l'anesthésie.

La plupart des agents anesthésiques ont des effets dépressifs sur le système cardio-respiratoire. La principale cause de défaillance cardiaque est un surdosage d'anesthésique ; d'où l'importance d'adapter les doses à chaque animal et chaque expérience. Il est possible de surveiller la fonction cardiaque via les muqueuses, la température périphérique, la pression, les modifications de la fréquence cardiaque et son rythme. Nous pourrions ici évaluer les changements de coloration des muqueuses et éventuellement la baisse de la température périphérique par palpation des extrémités. Une seconde cause de dépression cardio-vasculaire est l'hypovolémie, par pertes volumiques lors de chirurgie principalement. A partir de 15-20% de pertes, des signes d'hypovolémie et éventuellement de choc

commencent à apparaître. Ici, nous pouvons peser l'animal pour évaluer la déshydratation, et observer le pli de peau.

Enfin, l'hypothermie est un facteur fréquent de mort à l'anesthésie et relativement aisé à prendre en charge. Elle entraîne aussi un réveil prolongé. Une souris anesthésiée peut perdre plus de 5°C en 15 minutes si aucune mesure préventive n'est mise en place. L'hypothermie, ainsi que la déshydratation, peut être augmentée en anesthésie gazeuse par le courant de gaz sec et froid sur la tête de l'animal. (Flecknell, 2009). Un tableau résumant les principaux effets consécutifs à l'hypothermie est présenté en Annexe 4.

Il apparaît essentiel de connaître les différents protocoles existants, leurs avantages et inconvénients, afin de choisir celui qui aura le moins de conséquence sur ce que l'on cherche à étudier. Le but est de trouver l'agent anesthésique qui interférera le moins possible avec les résultats. (Hayton, Kriss, & Muller, 1999)

Durant la séance d'enseignement pratique, il est décidé à dessein, à des fins de sensibilisation des stagiaires, d'effectuer des procédures d'anesthésie avec ou sans tapis chauffant. De nombreux stagiaires en effet n'emploient pas de tapis chauffant : ils prennent ainsi conscience de la chute brutale et rapide de la température, même sans effectuer de geste chirurgical, entraînant une modification des autres paramètres physiologiques et de la qualité d'anesthésie.

## **6.2 Protocole, déroulé et procédure de la séance**

Après avoir déterminé les objectifs à atteindre, les points considérés comme acquis et le public à qui l'on s'adresse, nous pouvons établir un protocole.

Le protocole est accompagné d'une procédure destinée aux organisateurs de la séance (Annexe 5), d'un formulaire de suivi de l'anesthésie et d'un formulaire d'appréciation de la formation. J'ai participé à la rédaction de chacun de ces documents, qui a fait l'objet de plusieurs modifications au cours des sessions. Tableau IX : Récapitulatif des documents utilisés à chaque séance

Tableau IX : Récapitulatif des documents utilisés à chaque séance

<b>Protocole</b>	Destiné aux encadrants et aux stagiaires	Détaille les points clés de la séance : objectifs, attribution des protocoles, méthodologie...	Organisation autonome des stagiaires
<b>Formulaire de suivi de l'anesthésie</b>	10 formulaires, accompagnant chaque souris	Permet l'enregistrement des observations durant la séance	Bilan des activités et des observations en fin de séance
<b>Formulaire d'appréciation de la formation</b>	Un par stagiaire (anonyme)	Permet de faire des commentaires sur l'utilité pédagogique, les aspects pratiques et éthiques rencontrés	Bilan par les encadrants après la session
<b>Procédure de séance</b>	Destinée aux encadrants	Détaille le protocole, les animaux, les aspects techniques (matériels, consommables et produits)	Préparation de la séance

Le groupe de 16 stagiaires est encadré durant la séance par au moins deux personnes (deux enseignants et si possible un technicien qui apporte un soutien logistique) : l'un des enseignants coordonne la séance pour attribuer les rôles aux stagiaires et faire respecter le programme. Durant la séance, les encadrants vérifient l'avancement de chaque stagiaire, montrent les gestes attendus si besoin, pallient aux difficultés et répondent aux questions. La séance, bilan compris, dure 2h30 à 3h selon la dextérité des stagiaires. Le protocole est diffusé aux stagiaires le matin avant la séance pour qu'ils aient le temps d'en prendre connaissance (durant le premier groupe de la première session, une diffusion trop tardive en tout début de séance a entraîné des erreurs de réalisation).

*a*     Protocole

⇒     **OBJECTIF :**

Comparer des techniques courantes d'anesthésie et réaliser des gestes techniques qui nécessitent aseptie et anesthésie-analgésie chez les rongeurs. L'objectif n'est PAS de former à la chirurgie. Les procédures et posologies seront celles usuellement trouvées dans la bibliographie (modifiées d'après Cruz et al, 1998 et Hawk et al, Formulary 2005).

⇒     **CONDITIONS :** *Durée = 2h30. Effectif maximum = 16 stagiaires*

**PREREQUIS :** enseignement théorique et travaux pratiques précédents (examen clinique, administrations-prélèvements chez les rongeurs, aseptie, évaluation de la douleur).

**ANIMAUX** : 10 souris mâles de 28-30g (colonie outbred, statut SPF). Les animaux sont examinés, identifiés par un colorant du pelage et pesés avant l'anesthésie.

**MATERIEL** : à disposition dans la salle. Les mélanges anesthésiques et médicaments sont prêts à l'emploi, à température ambiante.

⇒ **ANESTHESIE**

Chaque protocole doit être documenté à l'aide d'un formulaire de suivi de l'anesthésie.

Tableau X : Répartition et marquage des souris

Tableau X : Répartition et marquage des souris

PROTOCOLES	1 : pentobarbital (50mg/kg IP)	2 : ketamine- xylazine (100-5 mg/kg IP)	3 : ketamine- xylazine (75-10 mg/kg IP)	4 : ketamine- medetomidine (75-1 mg/kg IP) et réversion atipamezole 1mg/kg SC à 20min	5 : isoflurane/O2 (induction 4% puis entretien 1,5-2% pendant 20min)
<b>a - Avec tapis chauffant</b>	Stagiaires A marquage Souris : tête + AG	Stagiaires B marquage Souris : tête + PG	Stagiaires C marquage Souris : tête + AD	Stagiaires D marquage Souris : tête + PD	Stagiaires E marquage Souris : tête + dos
<b>b- Sans tapis chauffant</b>	Stagiaires D marquage Souris : AG	Stagiaires E marquage Souris : PG	Stagiaires A marquage Souris : AD	Stagiaires B marquage Souris : PD	Stagiaires C marquage Souris : dos

Les animaux sont euthanasiés en fin de séance par injection IP ou IC d'une surdose de pentobarbital :

- avant le réveil en cas d'hypothermie <33°C ou si l'anesthésie est prolongée au-delà de 45 minutes.
- avant de procéder à un geste invasif ou douloureux si l'anesthésie apparaît insuffisante
- juste après le réveil si celui-ci est effectué dans un but pédagogique (par injection IP).

⇒ **GESTES EXPERIMENTAUX :**

- en conditions aseptiques pour gestes simples : injections IP ou SC, tatouage à la queue, prélèvement sanguin
- en conditions aseptiques pour gestes invasifs : injection intradermique d'eau physiologique, pose d'un transpondeur
- autres gestes sur demande : biopsie cutanée, coupe de dents, prélèvement pour génotypage, dislocation cervicale sur animal mort, lavage péritonéal sur animal mort...

⇒ **BILAN DE FIN DE SEANCE :** comparaison des protocoles et discussion

## *b*      Organisation pratique

### ⇒      **AFFECTATION DES TACHES :**

Chaque groupe de stagiaire (A à E) prend connaissance du protocole, calcule les doses d'anesthésie, se prépare (lavage des mains, mise en tenues, préparation de l'espace de travail), puis prend deux souris. Travail en binôme ou trinôme : les stagiaires se répartissent 10 protocoles à réaliser en parallèle, sur 10 souris (chaque groupe de stagiaire réalisera donc une anesthésie avec tapis chauffant et une sans ; les deux protocoles étant différents). Les anesthésies sont faites dans le calme, en laissant du temps entre les protocoles pour augmenter la disponibilité des encadrants et des stagiaires : il est recommandé aux stagiaires d'observer les autres protocoles.

Les groupes C et E n'auront de préférence jamais utilisé l'isoflurane.

Les groupes A et D seront composés de personnes utilisant le pentobarbital de préférence.

Le groupe B sera formé des personnes effectuant habituellement des anesthésies de souris.

### ⇒      **LOCAUX :**

Salle de travaux pratiques en expérimentation animale de Vetagro-Sup (au moins 7 tables dont une équipée d'un poste d'anesthésie gazeuse pour rongeurs, un évier).

### ⇒      **MATERIEL ET MEDICAMENTS (CF ANNEXE 5).**

Les solutions anesthésiques injectables doivent être administrées à 5ml/kg en IP, le meloxicam et l'atipamezole à 4 ml/kg en SC (une préparation extemporanée des mélanges anesthésiques est faite par l'enseignant responsable pour éviter des erreurs, même si il est demandé aux stagiaires d'effectuer les calculs nécessaires à la réalisation des mélanges et des administrations en fonction des posologies recommandées).

## *c*      Formulaire de suivi des protocoles

Un formulaire doit être rempli par les stagiaires pour chaque souris. Le formulaire a fait l'objet de plusieurs révisions au cours des sessions.

Les différents paramètres qui doivent être enregistrés sont expliqués par les enseignants avant de commencer la séance :

- minutage de l'anesthésie (T0 jusqu'au réveil ou à l'euthanasie)
- température corporelle, à l'aide d'un thermomètre à sonde rectale. Il est recommandé de prendre également la température du plateau sur lequel repose l'animal (table ou tapis chauffant).
- comportement (agitation, mouvements...)
- reflexes de redressement et reflexes au pincement (tiers distal de la queue et patte postérieure)
- tonicité musculaire évaluée grossièrement (résistance à l'étirement de la patte, tremblements)

- respiration : fréquence par minute, anomalies
- autres observations : couleur des muqueuses, degré d'ouverture des yeux, déshydratation, miction...

Les points limites et les méthodes d'euthanasie sont clairement indiqués avant le début de la séance. La décision d'euthanasie est prise par le groupe sous contrôle de l'encadrant (le geste étant effectué par un stagiaire ou par l'encadrant selon la situation).

Les différents gestes techniques sont expliqués et/ou démontrés par un encadrant à mesure de l'avancement des groupes (matériel, méthodes..). Les gestes effectués par chaque groupe doivent être indiqués sur le formulaire. Figure 13: Formulaire de suivi du protocole d'anesthésie



d Illustrations personnelles

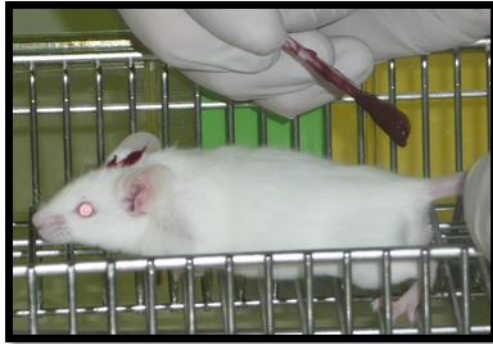


Figure14 : Identification des souris par coloration du pelage



Figure15 : Anesthésie à l'isoflurane

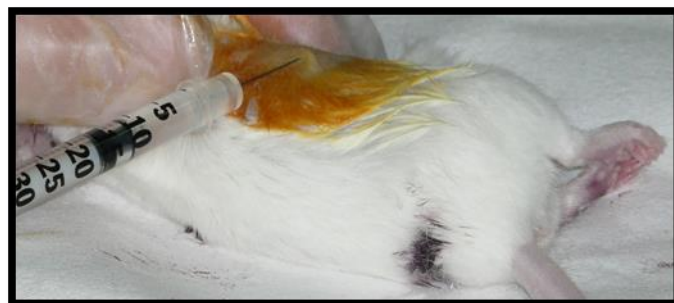


Figure16 : Injection ID sur zone opératoire



e Devenir des animaux :

En accord avec le comité d’Ethique de VetAgro Sup, les règles suivantes ont été décidées quant à l’euthanasie des animaux :

- L’euthanasie est souhaitée même en l’absence de gestes invasifs car la réutilisation des animaux n’est pas envisageable. Elle est réalisée par les stagiaires eux-mêmes sous supervision d’un encadrant, au plus tard à la fin de la séance.
- Seuls quelques animaux sont réveillés pour observer cette phase. Sinon les animaux sont euthanasiés avant leur réveil spontané. Les stagiaires sont encouragés à poursuivre après l’euthanasie la réalisation de gestes expérimentaux qui ne nécessitent pas que l’animal soit en vie.

Des points limites sont appliqués : hypothermie <33°C, anesthésie manifestement inadéquate, geste invasif.

### **6.3 Corrections apportées au protocole et analyse des résultats des stagiaires**

a Les séances « à blanc »

Plusieurs séances « à blanc » ont été réalisées pour tester le protocole en termes de faisabilité et de qualité pédagogique : des modifications ont été apportées au fur et à mesure, et le processus d’analyse reste en place afin de répondre au mieux aux attentes des stagiaires. J’ai participé à 3 séances.

⇒ *Premier essai (mai 2011)*

Le premier essai du protocole a été réalisé le 17 mai 2011 sur les protocoles d’anesthésie 1 à 4, sans chauffage et sans réveil avec euthanasie à 25 minutes. Pour cet essai à blanc, voici les posologies utilisées (une souris par essai) :

1. Pentobarbital à 40 mg/kg
2. Kétamine/Xylazine à 80/5 mg/kg
3. Kétamine/xylazine à 50/10 mg/kg
4. Kétamine/médétomidine à 50/1.25 mg/kg et atipamezole à 20 minutes

Les animaux n’étaient pas opérables à T2 pour les protocoles 1/2/3. Pour aucune technique nous n’avons obtenu des réflexes négatifs. L’hypothermie et la baisse de la fréquence respiratoire sont marquées (au maximum respectivement : 28.4°C et 27 rpm avec le pentobarbital), ce qui justifie d’autant plus l’euthanasie à la fin de la séance.

Suite à cette séance, les posologies des anesthésiques ont été réétudiées afin d’obtenir plus de différences entre les protocoles : des animaux opérables via la kétamine/xylazine, des réflexes négatifs avec ces mêmes protocoles, une différence plus importante au niveau de T1.

⇒ *Deuxième essai (septembre 2011)*

Un deuxième essai a donc eu lieu en septembre 2011 après avoir apporté ces modifications :

2. Kétamine/Xylazine à 100/5 mg/kg

3. Kétamine/Xylazine à 75/10 mg/kg

Le protocole avec l'isoflurane est aussi testé et les dispositifs de chauffage sont présents.

Ce test est relativement satisfaisant Tableau XI : Observations effectuées lors du deuxième essai (une souris par essai):

- Le T1 (perte du réflexe de redressement) est plus rapide avec l'isoflurane (30 secondes contre 1.30 minute en moyenne) : donc une rapidité d'induction plus importante.
- Seul le protocole au Pentobarbital ne permet pas une opération.
- A 7 minutes, les réflexes sont négatifs pour tous les protocoles sauf le Pentobarbital.
- L'hypothermie est bien contrôlée via les tapis chauffants.
- On observe une baisse de la fréquence respiratoire mais de manière plus raisonnable ; les protocoles anesthésiques sont donc de meilleures qualités.
- L'atipamezole agit en 5 minutes ce qui permet de montrer son efficacité.

Tableau XI : Observations effectuées lors du deuxième essai (une souris par essai)

		1- Pentobarbital	2- kétamine- xylazine 100/5	3- kétamine- xylazine 75/10	4- kétamine- médétomidine + atipamezole	5- isoflurane
T1	perte du réflexe de redressement	1 min 10	1 min 37	1 min 50	1 min 30	30 sec
T2	opération possible	non	5 min	5 min 20	2 min 40	1 min
7mn	Reflexes	Queue : oui	non	non	non	non
		Patte : oui				
	Température	35,6 °C	33,4 °C	35,3 °C	35,5 °C	35,6 °C
	Fr respiratoire	168 bpm	194 bpm	130 bpm	122 bpm	192 bpm
15mn	Reflexes	++	non	patte oui	non	non
	Température	35,1 °C	36,9 °C	34,9 °C	37,4 °C	35,4 °C
	Fr respiratoire	120 bpm	168 bpm	142 bpm	128 bpm	114 bpm
30mn	Reflexes	++	+	oui		non
	Température	34 °C	40,3 °C	31,6 °C		36,2 °C
	Fr respiratoire	168 bpm	200 bpm	150 bpm		166 bpm
	Autre :				Réveil à l'atipamezole en 5 min	

Ces essais permettent de mettre en évidence les détails de l'organisation à améliorer comme la nécessité de préparer les solutions anesthésiques la veille du TP, vérifier le matériel présent et nécessaire (en particulier le système Isoflurane : masques adaptés à la taille des rongeurs).

⇒ *Troisième essai (mars 2012)*

La troisième séance « à blanc » a été réalisée le 22 Mars 2012 par deux étudiantes vétérinaires qui ont bien voulu se prêter au jeu. Cet essai s'est déroulé sur 10 souris OF1 mâles de 32 grammes qui ont été euthanasiées avant leur réveil. Tableau XII

Anesth	Chau	T1	T2	Examen 1	Examen 2	Commentaire	Qualité
Pentobarbital	Oui	9'42	Non (tremblements, reflexe de redressement±)	T : 35,3°C Reflexes : ++ 192 rpm tonicité : ++	T : 35,9°C 144 rpm	Non opérable (injection non IP ?)	NON
Pentobarbital	Non	3'40	Idem	T : 33,5°C Reflexes : ++ 152 rpm tonicité : +	T : 31°C 112 rpm	Non opérable	NON
Keta-xyla 100/5	Oui	1'49	10'(reflexe patte +)	T : 34,5°C Reflexes : + 164 rpm tonicité : ±	T : 33,7°C 124 rpm		OK
Keta-xyla 100/5	Non	2'	7'35 (reflexe patte +)	T : 30 °C Reflexes : ± 132 rpm tonicité : +	T : 27,6 °C Reflexes : - 96 rpm	Problème IP ?	-
Keta-xyla 75/10	Oui	2'30	7' (reflexe patte +)	T : 35,2 °C Reflexes : ± 148 rpm tonicité : +	T : 35,5 °C 152 rpm tonicité : ±		OK+
Keta-xyla 75/10	Non	2'48	6'45 (reflexe patte +)	T : 32,5 °C Reflexes : ± 120 rpm tonicité : ±	T : 29,4 °C 96 rpm tonicité : -		-
Keta-medet	Oui	1'40	6'	T : 35,5 °C Reflexes : ± 180 rpm tonicité : +	T : 35,4 °C 204 rpm	T3 31' (atip)	OK+
Keta-medet	Non	0'55	5'	T : 33,3 °C Reflexes : - 184 rpm tonicité : -	T : 30,6 °C 124 rpm	T3 30' (atip)	-
Isoflurane	Oui		<1mn (pb induction ?)	T : 35,2 °C Reflexes : - 80 rpm (O2) tonicité : -	Arrêt à 20' (idem examen 1)		OK+
Isoflurane	Non		<1mn (pb induction ?)	T : 31 °C Reflexes : - 64 rpm (O2)	Arrêt à 20' (idem examen 1)		OK

Tableau XII : Observations effectuées lors du troisième essai (une souris par essai)

Suite à cet essai, il a été décidé d'ajouter à la liste des gestes expérimentaux des injections IP ou SC d'eau physiologique colorée avec 0,4% de bleu d'Evans. En effet, ceci permettra après euthanasie de mettre en évidence la qualité de l'injection et leur drainage à l'occasion d'une autopsie.

Les variabilités observées au cours de ces 3 essais soulignent la difficulté d'obtenir des résultats reproductibles, compte tenu de la variabilité individuelle des animaux, des conditions techniques disponibles dans une salle d'enseignement, de la plus ou moins grande dextérité des opérateurs.

*b Bilan des résultats obtenus par les stagiaires durant 8 séances et des problèmes rencontrés*

Ces travaux pratiques ont pu être intégrés à la formation niveau 1 dès début 2011 (Formation continue et Master) : 8 séances ont déjà eu lieu en Juin 2011, Octobre 2011, Juin 2012, Octobre 2012. Les résultats obtenus par les stagiaires sont récapitulés en Annexe 6.

Un bilan a été fait à l'issue des sessions 2011-2012 pour présenter un poster au Congrès de l'AFSTAL à Marseille en Juin 2012 : « *Bien-être et qualité expérimentale au cours de l'anesthésie des rongeurs : organisation d'un enseignement pratique* » (Annexe 7). Figure17 : Illustration des résultats obtenus avec tapis chauffant (Annexe 8) Figure18 : Illustration des Résultats obtenus sans tapis chauffant (Annexe 8)

Observations	Avec tapis chauffant				
	Durée d'anesthésie (sec)	Réflexes et tonicité	Température minimale	Fr minimale	Autres :
Isoflurane (4% induction puis 1-2% pendant 30 minutes)	T1 : 60 T2 : 110 T3 < 30 sec après arrêt isoflurane	Rt : - Rp : - T : -	36,4	80 (mais O2 pur)	
Kétamine-Xylazine (100-5 mg/kg ip)	T1 : 109 T2 non atteint T3 > 35 min	Rt : + Rp : + T : ++	34,7	124	Difficile d'estimer la profondeur d'anesthésie ; YO
Kétamine-Xylazine (75-10 mg/kg ip)	T1 : 150 T2 : 420 T3 : 32 min	Rt : - Rp : +/- T : +	35,5	152	
Kétamine-Médétomidine (75-1 mg/kg ip) / Atipamézole 1 mg/kg sc 25 minutes après	T1 : 100 T2 : 360 T3 : 180 sec après A	Rt : - Rp : +/- T : +	35,4	204	Miction ; Réveil rapide après injection Atipa.
Pentobarbital (50 mg/kg ip)	T1 : 582 T2 non atteint T3 > 35 min	Rt : + Rp : + T : -	35,9	144	Agitation tout au long de l'anesthésie

Figure17 : Illustration des résultats obtenus avec tapis chauffant (Annexe 8)

Les réflexes sont notés : Rt pour la queue et Rp pour la patte postérieure ; YO : yeux ouverts.

Sans tapis chauffant			
Durée d'anesthésie (sec)	Réflexes et tonicité	Température minimale	Fr minimale
T1 : 60 T2 : 110 T3 < 30 sec après arrêt isoflurane	Rt : - Rp : - T : -	31,6	64 (mais O2 pur)
T1 : 120 T2 non atteint T3 > 35 min	Rt : + Rp : +/- T : ++	28,6	96
T1 : 168 T2 : 405 T3 > 35 min	Rt : - Rp : +/- T : +	29,4	96 (respiration irrégulière)
T1 : 55 T2 : 300 T3 : 360 sec après A	Rt : - Rp : - T : +	30,6	124
T1 : 255 T2 non atteint T3 > 35 min	Rt : + Rp : + T : -	31	112

Figure18 : Illustration des Résultats obtenus sans tapis chauffant (Annexe 8)

Lors des premières séances nous avons pu constater des confusions entre réflexes et tonicité (T) ainsi que des erreurs sur la mise en pratique des réflexes. C'est pourquoi des pinces en plastique souple ont été rajoutées au matériel afin que les réflexes soient réalisés plus précisément.

Les caractéristiques principales de chaque protocole sont globalement retrouvées à chaque séance, et discutées dans le bilan final :

- durée opératoire très inférieure à la durée d'inconscience avec les anesthésiques fixes
- hypothermie marquée et rapide en l'absence de tapis chauffant, quelle que soit l'anesthésie. L'hypothermie modifie les durées d'anesthésie et s'accompagne d'autres modifications physiologiques.
- impact marqué de l'anesthésie sur la respiration, pouvant engendrer une hypoxie (la baisse nette de la fréquence respiratoire avec l'isoflurane étant compensée par l'apport d'O2 pur).
- effets variables de l'anesthésie sur l'ouverture oculaire, la miction, pouvant nécessiter des précautions (gel oculaire, réhydratation..).
- persistance plus ou moins nette des réflexes avec la kétamine, rendant difficile l'appréciation de la profondeur d'anesthésie.
- mauvaise qualité de l'anesthésie par le pentobarbital
- qualité et facilité d'emploi de l'isoflurane
- qualité et facilité d'emploi du mélange kétamine-xylazine
- efficacité de la réversion par l'atipamezole : réveil de meilleure qualité

Le bilan de ces séances se révèle globalement positif (Tableau XIII: Bilan général des séances :

Tableau XIII: Bilan général des séances

	Aspects positifs	Aspects négatifs
<b>Déroulé général</b>	Bonne illustration de tous les aspects de l'enseignement théorique : matériel, phases de l'anesthésie, impact physiologique... Intérêt pédagogique du bilan en fin de séance	Coordination du groupe complexe, nécessitant une forte mobilisation des encadrants
<b>Comparaison des protocoles</b>	Mise en évidence d'un grand nombre des éléments de comparaison (hypothermie, durée et qualité de l'anesthésie...)	Variabilité marquée des résultats (variations individuelles et subjectivité des mesures)
<b>Acquisition de compétences</b>	Acquisition de nombreuses compétences par les stagiaires, à la fois grâce au schéma d'enseignement proposé et aux nombreuses discussions	Problèmes liés au manque de dextérité des stagiaires (manque de respect du protocole, qualité de réalisation des injections IP, évaluation des réflexes)

Ces différentes séances ont pu mettre en avant certaines difficultés de mise en place de ce travail mais soulèvent aussi quelques questions. Tout d'abord, l'aspect discipline n'est pas évident à gérer en ce qui concerne ce travail de thèse en particulier au niveau de la qualité de retranscription des résultats inhérente aux participants. En effet, il n'est pas toujours aisé d'avoir des formulaires de résultats et des questionnaires correctement, complètement et précisément remplis; même en allant voir les groupes un à un en leur expliquant la finalité d'utilisation.

D'un point de vue des protocoles, nous voulions aboutir à cinq protocoles vraiment différents afin d'avoir un éventail large des techniques actuelles et de faire efficacement ressortir les avantages/inconvénients de chacune. Il est apparu rapidement que ceci serait difficile à obtenir : les protocoles à base de kétamine/xylazine ou kétamine/médétomidine restent assez proches. Néanmoins, malgré un manque de différences frappantes, nous avons pu montrer les qualités d'une bonne anesthésie, les avantages de l'atipamezole, et les effets de l'hypothermie en particulier. Les protocoles Isoflurane et kétamine/xylazine sont principalement retenus par les étudiants ce qui correspond au but fixé.

Le protocole au Pentobarbital a soulevé des questions au sein des étudiants. D'une part, malgré une technique encore souvent utilisée, ce travail a pu mettre en avant ses limites en matière de qualité d'anesthésie. Cette méthode ne devrait plus être utilisée actuellement étant donné les champs d'action possible et de meilleures qualités que nous avons à

disposition en matière d'anesthésie ; les participants en ont pris conscience pour la plupart et devraient transmettre ce message dans leur futur professionnel. Un cas intéressant s'est présenté pour deux groupes anesthésiants au pentobarbital durant la même séance : leur souris présentait des réflexes positifs, des tremblements, une hypothermie marquée illustrant une anesthésie de mauvaise qualité ne leur permettant ni d'exercer des gestes techniques tels qu'une injection intradermique ni le réveil de leur souris (la température étant inférieure à 33°C). Ils ont donc eu le choix entre euthanasier leur souris dans un premier temps et réaliser les gestes par la suite, ou tenter l'injection d'une ½ dose supplémentaire de pentobarbital et observer l'évolution de l'anesthésie. Les deux groupes ont choisi de prolonger l'anesthésie car ils étaient curieux d'évaluer l'effet de cette dose supplémentaire et d'observer s'ils atteindraient une qualité anesthésique suffisante. Dans les deux cas, cette injection n'a pas suffi à obtenir une profondeur satisfaisante, illustrant une nouvelle fois la qualité médiocre d'une anesthésie au pentobarbital même pour des gestes simples, ou pour de la contention à réaliser. Il était intéressant de constater la volonté de ces étudiants d'approfondir la notion d'anesthésie plutôt que de filer tout droit vers la pratique de gestes techniques. L'objectif de ce TP était donc satisfaisant et répondait aux attentes des participants.

Le matériel est une autre difficulté à prendre en compte : les mesures de température ont été biaisées pour certains groupes dues à des tapis chauffant non fiables, même si tout le matériel est vérifié avant chaque séance. Cependant, la notion d'hypothermie étant traitée dans le bilan final, ces étudiants ont de ce fait pu voir les différences entre les protocoles avec tapis chauffant ou non. Dans les premières séances, nous avons pu mettre au point un système performant pour les masques servant à l'anesthésie volatile : un système de doigt de gant a été installé afin d'éviter au maximum la déperdition de gaz mais aussi d'optimiser l'inhalation de la souris. En matière de déperdition d'isoflurane dans l'environnement, nous avons décidé de réaliser les protocoles 5 après toutes les anesthésies fixes pour éviter de respirer cet anesthésique pendant 2h mais aussi pour que tous les groupes puissent en profiter ; cette technique est la plus optimale en matière de rongeurs de laboratoire et devrait se développer dans l'avenir.

Enfin, nous avons eu quelques cas particuliers, illustrant par la même occasion les complications inhérentes à l'anesthésie et l'intérêt de réaliser des protocoles adaptés à chaque cas. Au cours de la session de Juin 2011, une souris est morte suite à l'induction du protocole Kétamine/Médétomidine : un arrêt respiratoire s'est produit. Nous pouvons éventuellement l'expliquer par une erreur d'injection ou encore une erreur de dosage.

#### **6.4 Appréciation de la formation par les stagiaires**

Afin d'évaluer l'efficacité pédagogique de la séance, des appréciations ont été effectuées en fin de formation à l'aide de questionnaires anonymes. Deux questionnaires ont été utilisés :

- un questionnaire général sur l'ensemble des enseignements théoriques et pratiques est analysé systématiquement à chaque session de formation dans le cadre de l'accréditation FELASA.
- un questionnaire propre à la séance a été distribué à l'occasion de deux séances en octobre 2012 (Figure 19). Dans celui-ci, nous évaluons la diversité des formations d'origine des participants ainsi que leur expérience en matière d'animaux de laboratoire et en particulier d'anesthésie. Nous cherchons à objectiver si les objectifs fixés sont atteints, si l'organisation et le protocole répondent aux attentes des participants. Enfin, une partie est laissée aux suggestions et remarques afin de



pouvoir faire évoluer le protocole ou encore de mieux justifier nos choix au sein de la procédure.

## QUESTIONNAIRE SUR LE TP ANESTHESIE – 2011/2012

### FORMATION :

Master	Doctorant	Technicien	Chercheur
•	Expérience avec les animaux de laboratoire :		< 6 mois      ≥ 6 mois
•	Compétences en anesthésie-chirurgie :		pas/peu moyennes      bonnes

### OBJECTIFS DU TP :

- L'objectif du TP est-il clair et respecté ?      Oui      Non
- Si non, précisez SVP :

### MISE EN PLACE DU TP :

- La durée était adaptée :      Oui      Non
  - Si non, précisez svp :
- Le nombre d'animaux était adapté :      Oui      Non
  - Si non, précisez svp :
- L'organisation du TP était adaptée :      Oui      Non
  - Si non, précisez svp :
- L'euthanasie en séance est adaptée :      Oui      Non
  - Si non, précisez svp :

### OBJECTIFS ATTEINTS : QU'AVEZ-VOUS RETENU ?

- Différences entre protocoles ?      Oui      Non
  - Précisez svp :
- Méthode d'évaluation de la profondeur d'anesthésie ?
 

État général	Reflexes	Température	Autres :
--------------	----------	-------------	----------

  - Précisez svp :
- Nécessité de combiner anesthésie et analgésie ?      Oui      Non
  - Précisez svp :
- Faut-il adapter le protocole au geste prévu ?      Oui      Non
  - Précisez svp :
- Importance d'une asepsie pré-intervention ?      Oui      Non
- Gestes techniques : technique acquise ?      Oui      Non
  - Précisez svp :

### REMARQUES ET SUGGESTIONS

- Le TP a-t-il répondu à vos attentes ?      Oui      Non
  - Points positifs : \_\_\_\_\_
  - Points négatifs : \_\_\_\_\_

Autre commentaire ou suggestion :

*Merci, ceci contribue à un travail de thèse vétérinaire !*

Figure 19 : Questionnaire d'évaluation

De façon générale, la séance est considérée comme très satisfaisante dans l'appréciation globale de la formation (information personnelle Dr Grézel, responsable pédagogique de l'ensemble de la formation) :

- 40% estiment la séance utile (« adapté »). Plusieurs stagiaires ont toutefois fait la remarque qu'ils avaient rencontré un problème au cours de la séance (défaut d'organisation, résultat inattendu..).
- 40% estiment la séance particulièrement intéressante (« très adapté »)
- 20 % estiment avoir une expérience antérieure équivalente, de par leur cursus de formation ou leur expérience professionnelle (« déjà connu »)
- aucune appréciation négative. Néanmoins, plusieurs stagiaires ont fait la remarque qu'ils auraient préféré disposer d'une souris chacun ; cette remarque n'a pas été prise en compte car elle pourrait affecter l'objectif pédagogique de partage des observations entre les stagiaires, et augmenter inutilement le nombre d'animaux utilisés.

En ce qui concerne le questionnaire propre à la séance d'enseignement d'anesthésie (32 réponses), 72 % avaient une expérience de plus de 6 mois avec les animaux de laboratoire. De plus, 47 % estiment avoir des compétences moyennes en anesthésie et chirurgie, 34 % peu voire pas de compétences, et 19 % de bonnes compétences. Le diagramme ci-dessous répertorie les différentes formations d'origine des participants. Figure20 : Niveau de formation et de responsabilité des stagiaires

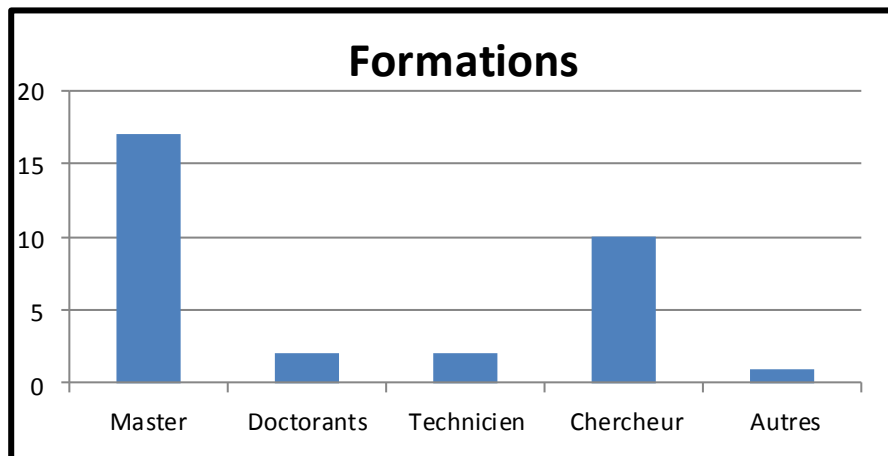


Figure20 : Niveau de formation et de responsabilité des stagiaires

Nous avons donc à faire à un public d'origines et de compétences variées. Cet effectif n'est peut-être pas entièrement représentatif, cependant cela nous donne une idée sur l'appréciation du protocole.

Concernant l'objectif du TP et la durée, les réponses sont unanimes. L'objectif est clair et respecté et la durée est adaptée pour l'ensemble des étudiants. Néanmoins, 15.6% estiment que le nombre d'animaux est insuffisant ; ils auraient préféré une souris par personne. Cependant, il semble que cela soit un bon compromis afin que chacun puisse tout voir, tout le monde a pu manipuler, ceci étant adapté à un TP de 2h (d'après les remarques et suggestions) et respectant au mieux la loi des « 3R » visant à réduire le nombre d'animaux

utilisé. Il est à noter que la durée de la séance est souvent prolongée (2h30 voire 3h selon les groupes).

L'organisation générale du TP semble satisfaisante à 87.5%, mettant en avant la disponibilité des encadrants et le travail en équipe. La distribution des groupes en début de TP est un point délicat à gérer, pas toujours claire. Nous avons changé plusieurs fois de méthode ; la compréhension est aussi dépendante du groupe présent. Un exemple de tableau de répartition correctement mené est présenté ci-dessous (Figure21)

	1	2	3	4	5
<i>+ meloxicam + legrivise (si yeux ouverts)</i>	pentobarbital 50mg/kg	Ketamine 100 xylozine 5	Ketamine 75 xylozine 10	Ketamine 100 medetom. 1 → 20' atipamezole	isoflurane 0.2 induction boîte 4% entretien masque 2%
a) avec topis Charlart	A Clémence Guerr Aurélie	B Doriane Sarah Yoann Julien	C Pauline Géraldine Johanna	D Isa Lucie Cindy Maie	E Emilie Isabelle Stéphane
b) sans	D	E	A	B	C
	<i>euthésie si <math>\theta &lt; 33^{\circ}\text{C}</math> ou geste invasif postérieur à l'ip ou à l'ovic</i>				

Figure21 : Tableau de répartition des protocoles entre les stagiaires

L'association anesthésie-analgésie, l'adaptation des protocoles en fonction du geste et l'importance de l'asepsie sont des grandes lignes semblant être acquises à la fin de cette formation pour la plupart des participants (87.5%).

La gestion de la profondeur de l'anesthésie est un point clé au sein des objectifs, avec entre autre la diversité des protocoles. Au sein du questionnaire, les participants doivent citer les critères et/ou paramètres physiologiques qui leur permettent d'évaluer selon eux la profondeur de l'anesthésie. Le diagramme ci-dessous répertorie leurs réponses : Nous pouvons noter que l'appréciation des réflexes (patte et queue) est citée à 44 %. (Figure22)

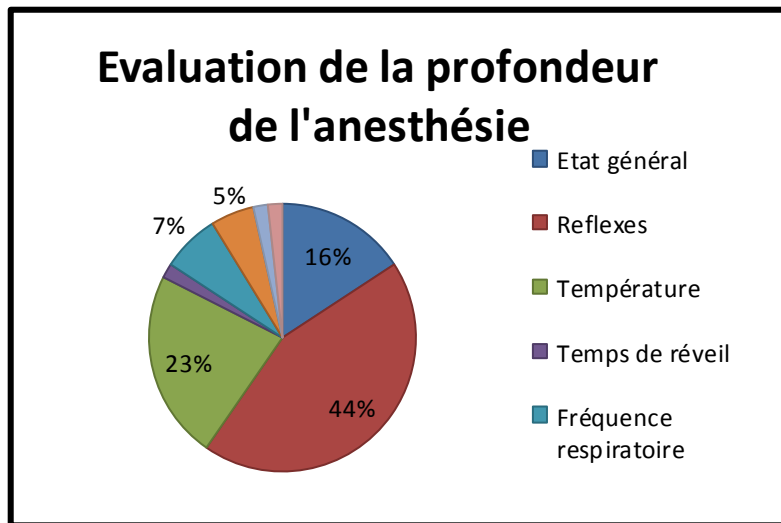


Figure22 : Evaluation de la profondeur de l'anesthésie

L'euthanasie a suscité de nombreuses questions au cours des 2 séances auxquelles j'ai eu l'occasion d'assister. Dans le questionnaire, 9.4% ne trouvent pas l'euthanasie adaptée, et s'interrogent sur l'utilité de sacrifier les animaux en fin de séance ; 5 personnes l'ont noté en points négatifs.

Enfin, attardons-nous sur le contenu de ce travail et sur ses objectifs. Les différences entre les protocoles semblent bien mises en avant, 97 % estiment avoir retenu cette notion, indiquée dans les points positifs de ce TP. En particulier, l'inefficacité du pentobarbital en tant qu'anesthésique a été soulignée et l'utilité du tapis chauffant quel que soit le protocole a été remarquée.

Chaque étudiant a retenu l'importance de suivre la profondeur de l'anesthésie. Comme le montre la figure ci-dessus, l'évaluation des réflexes (44%), de la température (23%) et de l'état général (16%) sont les trois principaux critères soulignés dans le questionnaire comme utiles à la gestion de la profondeur.

D'un point de vue positif, l'approche de plusieurs méthodes d'anesthésies et la discussion sur les avantages/inconvénients de chacune ont satisfait les différents expérimentateurs. Ils retiennent principalement l'intérêt de l'isoflurane ainsi que les protocoles kétamine/xylazine et kétamine/médétomidine (surtout pour sa réversibilité). La mise en évidence de l'absurdité d'utiliser du pentobarbital à l'heure actuelle est une satisfaction ; en espérant pouvoir réduire cette pratique par la suite à notre niveau d'action.

Enfin, dans les points négatifs, nous retiendrons entre autre l'incapacité à la sortie de ce TP pour certains étudiants de choisir un anesthésique en fonction du geste à réaliser. Etant donné le peu de temps imparti, cela n'est pas illogique, cependant, nous pourrions éventuellement envisager de réaliser un tableau synthétique et pratique afin de résumer les grandes lignes dans ce domaine : « quel agent pour quel geste ? ». (Annexe 9)

En résumé, sur ces deux séances, l'objectif du TP est respecté ; les messages que nous voulions faire passer semblent retenus et satisfaisants pour les participants.

La problématique de l'euthanasie revient régulièrement au cours des séances, que ce soit dans les questionnaires ou lors des discussions que nous avons pu avoir avec les participants. Il nous semble donc intéressant de revenir sur ce point et d'expliquer clairement nos choix à chaque session.

Le devenir d'un animal dans une procédure est soumis à trois options :

- L'euthanasie est l'option de loin la plus fréquente. Elle peut être justifiée soit par des raisons expérimentales (nécessité d'examen post-mortem et/ou de prélèvements incompatibles avec la survie), soit par des raisons de bien-être (la souffrance de l'animal et/ou la présence de lésions irréversibles), soit enfin par des raisons pratiques et économiques (manque de place, de personnel et de moyens pour accueillir et soigner les animaux). L'euthanasie n'est requise que si « l'animal risque de souffrir de manière prolongée ou permanente » (décret 2001-464) ou si un risque biologique interdit un autre devenir (infection expérimentale..).
- La réutilisation sous conditions
- La réhabilitation, c'est à dire le placement à d'autres fins que l'expérimentation animale (animal de compagnie, réinsertion dans un milieu compatible, voire relâche, en ce qui concerne les animaux sauvages...).

Dans notre cas, plus de la moitié des souris subissent des dommages considérés comme des points limites interdisant leur réveil d'anesthésie (hypothermie, maladresse de réalisation des actes....). Ces dommages sont inévitables étant donnés les objectifs pédagogiques qui ont été définis. Ces souris sont utilisées, y compris après l'euthanasie, pour l'apprentissage de gestes techniques indispensables.

La question se pose donc de conserver 3 à 4 souris qui n'ont pas subi a priori de dommages importants à chaque séance :

- leur réutilisation pour une autre procédure n'est pas envisageable. En effet, même si l'anesthésie et les gestes techniques se sont bien déroulés, chaque animal subit tout de même en moyenne une ou deux injections IP, une à trois injections SC, trois à quatre injections intradermiques, 2 tatouages, l'injection d'un transpondeur ou autre geste technique. Cela paraît suffisant, par respect du bien-être animal. La diminution du nombre des actes par animaux impliquerait une forte augmentation du nombre total d'animaux utilisés, ce qui n'est pas une meilleure solution. Par ailleurs, la procédure entraîne une rupture du statut sanitaire des animaux (initialement SPF, manipulés dans des locaux conventionnels) qui interdit leur retour dans l'animalerie d'origine à l'issue de la séance.
- Leur réhabilitation, en tant qu'animaux de compagnie, n'est pas non plus envisageable. Selon le code rural (articles R214-89 et R214-92), le laboratoire doit accepter de céder les animaux pour adoption sous réserve de conservation du bien-être animal, de bon état de santé et d'absence de risques pour la santé publique et l'environnement. Vu le nombre de gestes réalisés sur chaque animal, il est possible que certains gestes aient été mal réalisés, entraînant un risque de douleur ou de complication infectieuse par la suite.

Cette réflexion pragmatique peut être déroutante, peu éthique, pour un étudiant en formation. Elle paraît cependant indispensable à la formation de personnes qui se destinent à pratiquer l'expérimentation animale. En visualisant l'inefficacité de certains protocoles comme en particulier le pentobarbital, les participants ont pris conscience de l'intérêt d'arrêter cette pratique. De plus, il faut noter que des précautions sont prises pour respecter le bien-être animal : les animaux restent sous anesthésie générale, avec une analgésie supplémentaire, et les animaux ne subissent pas de gestes techniques tant que l'anesthésie est trop légère. Par exemple, lors de la séance du 10 Octobre 2012, des étudiants se sont rendus compte en voulant réaliser une injection intradermique sur une souris anesthésiée

au pentobarbital que ce geste n'était pas adapté à la profondeur de leur anesthésie. Ils ont donc repoussé avec une demi-dose avant de la réaliser.

A chaque séance, il est proposé aux stagiaires d'apprendre la technique d'euthanasie par dislocation cervicale, sous réserve qu'elle se fasse une fois les animaux profondément anesthésiés, voire sur des cadavres. Au cours de nos séances, nous avons dû réaliser aussi à deux reprises une dislocation cervicale, exécutée par un encadrant, suite à une mauvaise anesthésie (pentobarbital, erreur d'injection..), afin d'écourter les souffrances de l'animal. Ce point aussi soulève des interrogations, car certaines personnes sont confrontées pour la première fois à des décisions qui sont le quotidien de l'expérimentation animale : choix de la méthode de mise à mort, réalisation préalable d'une sédation ou d'une anesthésie...

Nous avons donc répondu au maximum à la notion de raffinement présentée dans la loi des « 3R ». Celle-ci correspond à des améliorations qualitatives de l'expérimentation comme la réduction du nombre des animaux utilisés, la réduction de la souffrance animale avant, pendant et après une expérience, notamment via l'utilisation d'anesthésiques et d'analgésiques et enfin, via la définition d'un point limite en expérimentation animale.

## **6.5 Discussion : Un TP d'anesthésie sans animaux ?**

Il serait intéressant de réfléchir à la faisabilité d'un TP d'anesthésie sans animaux.

En effet, si nous regardons dans le domaine de la chirurgie en expérimentation animale, il existe actuellement une vingtaine de formation plus ou moins spécialisées en France. Parmi celles-ci, une seule propose un TP sans utilisation d'animaux. Suite à un entretien avec le Dr Catherine Vogt (le 07/11/2012), responsable d'une formation à la chirurgie expérimentale de l'Université de Lyon 1, approuvée par la CNEA en 2011, j'ai pu obtenir quelques informations permettant un parallèle intéressant avec notre travail.

Cette formation en chirurgie n'utilise pas d'animaux vivants, mais seulement des vidéos montrant les gestes importants ainsi que des exercices pratiques sur des pièces anatomiques provenant d'animaux euthanasiés dans le cadre d'autres projets (pieds de porcs, pattes de lapin, paroi abdominale de rat, gros intestin de rat). En ce qui concerne la partie suture par exemple, elle est tout à fait réalisable sur des chaussettes ou autre support non vivant.

Au sein de cette formation, 50% des participants viennent du niveau 1 et 50 % du niveau 2. Ces derniers s'intéressent plus à la prise en main des instruments qu'à la technicité, car ils possèdent moins d'expérience dans ce domaine. On retrouve donc ici aussi une variabilité au sein des formations antérieures modifiant les attentes de chacun.

Un questionnaire est envoyé 6 mois après les séances de TP afin d'évaluer l'évolution des connaissances, l'avis sur ce travail et les pratiques quotidiennes des participants. Les données qui en ressortent, montrent que 70% semblent modifier leur façon de travailler dans les 6 mois mettant en évidence l'efficacité de la formation même sans l'intervention d'animaux.

C'est pourquoi nous pouvons nous interroger sur l'éventualité de travaux pratiques d'anesthésie sans animaux. En s'inspirant de ce modèle, nous pourrions utiliser les données obtenues avec notre travail.

D'une part, grâce aux valeurs récupérées pour chaque protocole tels que : la température, les paramètres évaluant la profondeur, la rapidité d'induction ; il serait relativement aisé de transmettre les objectifs en créant des courbes et tableaux de données pour chaque

protocole. Nous pourrions imaginer l'attribution d'un protocole par groupe ou alors d'un paramètre à étudier par groupe en fonction des différents protocoles. Les étudiants n'auraient donc pas besoin d'animaux vivants pour appréhender les variations de température, les variations de la profondeur ou la rapidité d'induction par exemple. Annexe 10

D'autre part, nous pourrions réaliser des vidéos au sein des différentes séances de travaux pratiques actuelles afin de visualiser l'anesthésie d'une souris sous pentobarbital, les techniques de prélèvements, la réversibilité de certain protocole ou encore la technique de cage à induction pour le protocole Isoflurane.



## CONCLUSION

Dans le contexte de souci du bien-être animal qui prévaut aujourd'hui, la réglementation européenne sur l'expérimentation animale impose la prise en charge de la douleur, ce qui implique la maîtrise de l'anesthésie, et passe obligatoirement par la compétence du personnel. Les expérimentateurs doivent recevoir des formations initiales, spécifiques et continues afin de pouvoir maîtriser l'anesthésie-analgésie en respectant les caractéristiques propres des rongeurs et en essayant de limiter les interférences avec les résultats. Il est de ce fait primordial d'adapter chaque anesthésie à l'espèce mais aussi à l'individu utilisé.

Après une analyse bibliographique des recommandations d'anesthésie des rongeurs, nous avons dressé un état des lieux des pratiques d'anesthésie actuelles, ce qui nous a permis de fixer des objectifs de formation. Nous avons alors contribué à mettre en place, au cours d'une formation à la protection des animaux de laboratoire pour les chercheurs, une séance de travaux pratiques axés sur l'amélioration des pratiques et sur le choix du protocole d'anesthésie.

La séance de travaux pratiques a été organisée de façon à comparer 5 protocoles courants d'anesthésie de la souris, réalisés avec ou sans maintien de la température corporelle par un tapis chauffant. Les stagiaires ont eu pour consigne de remplir un formulaire de suivi de l'anesthésie, de tant sur la profondeur et la durée, que sur l'observation clinique. Ils ont également profité de la séance pour réaliser de petits gestes en condition d'asepsie. La séance finit par un bilan en groupe.

Nous avons élaboré la procédure d'organisation de la séance d'enseignement, le formulaire de suivi de l'anesthésie, et le questionnaire d'évaluation de la séance d'enseignement. Nous avons assisté à plusieurs séances de travaux pratiques pour évaluer les compétences acquises par les stagiaires et leur ressenti, afin d'ajuster le déroulé de la séance en conséquence.

Cette étude a permis d'affiner le déroulement de travaux pratiques afin de répondre au mieux aux objectifs pédagogiques. Les protocoles Isoflurane et Kétamine-Xylazine sont mis en avant, tout comme l'importance de l'appréciation de la profondeur de l'anesthésie et les risques consécutifs à l'hypothermie. L'analyse des résultats et des questionnaires de satisfaction des participants montre que les travaux pratiques ainsi établis répondent aux attentes de notre projet. Cependant, une certaine variabilité des résultats liée à la subjectivité des réponses de chaque participant ainsi qu'à leur application à retranscrire les données peut être observée.

Ce document, qui illustre une démarche pédagogique, constitue un support utile pour la mise en place d'une formation visant à optimiser l'anesthésie des rongeurs de laboratoire. Le protocole qui en résulte n'est pas figé et subira encore certainement des modifications, telles qu'une réduction du recours aux animaux vivants, grâce à l'utilisation des fiches de suivi produites durant ces séances.

**Le Professeur responsable  
VetAgro Sup campus vétérinaire**



**Le Directeur général  
VetAgro Sup**

**Le Président de la thèse**



**Vu et permis d'imprimer**

Lyon, le **19 SEP. 2013**  
Pour le Président de l'Université,  
Le Président du Comité de Coordination des Etudes Médicales,  
Professeur F.N. GILLET



Par déléga  
Pr F. Grain - I

VetAgro Su  
Campus Vétér



## BIBLIOGRAPHIE

Abelson, K. S. P., Jacobsen, K. R., Sundbom, R., Kalliokoski, O., & Hau, J. (2012). Voluntary ingestion of nut paste for administration of buprenorphine in rats and mice. *Laboratory Animals*, 46(4), 349–351

Altura, B. M., Altura, B. T., & Carella, A. (1980). Effects of ketamine on vascular smooth muscle function. *British journal of pharmacology*, 70(2), 257–267.

ACVA (2009). Recommendations for monitoring anesthetized veterinary patients. From <http://www.acva.org/>

Arras M, Autenried P, Rettich A, Spaeni D, Rüllicke D.(2001). Optimization of Intraperitoneal Injection Anesthesia in Mice: Drugs, Dosages, Adverse Effects, and Anesthesia Depth. *Comparative medicine*,51(5), 443-456.

Avsaroglu, H., van der Sar, A. S., Van Lith, H. A., van Zutphen, L. F. M., & Hellebrekers, L. J. (2007). Differences in response to anaesthetics and analgesics between inbred rat strains. *Laboratory Animals*, 41(3), 337–344. doi:10.1258/002367707781282811

AVMA (American Veterinary Medical Association). Guidelines on Euthanasia. (2007) from : [http://www.avma.org/issues/animal\\_welfare/euthanasia.pdf](http://www.avma.org/issues/animal_welfare/euthanasia.pdf)

Bacellar M., Querubin J., Peterson-Jones S.M. (2012). A facemask for gaseous anesthesia in laboratory rodents and chicks that allows easy access to the eyes for ophtalmic procedures. *Veterinary Ophthalmology* (2012) 1-2

Barnett, S. W. (Ed.). (2007). *Manual of Animal Technology*. (S. W. Barnett, Ed.) (1st ed. p. 440). Wiley-Blackwell.

Barthe S. (2010). La réhabilitation des animaux de laboratoire. ENVT : Thèse de doctorat vétérinaire, Université Paul-Sabatier de Toulouse, Toulouse, 159p.

Bazin, J.-E., Constantin, J.-M., & Gindre, G. (2004). [Laboratory animal anaesthesia: influence of anaesthetic protocols on experimental models]. *Annales françaises d'anesthésie et de réanimation*, 23(8), 811–818. doi:10.1016/j.annfar.2004.05.013

Bouchoux E. (2004). Conception et élaboration d'un module de formation destiné au personnel d'animalerie : "manipulations des animaux de laboratoire". ENVL : Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon, 71p.

Casteels, C., Bormans, G., & Van Laere, K. (2010). The effect of anaesthesia on [(18)F]MK-9470 binding to the type 1 cannabinoid receptor in the rat brain. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*, 37(6), 1164–1173. doi:10.1007/s00259-010-1383-7

CCPA (Conseil Canadien de Protection des Animaux en science. Lignes directrices du CCPA sur : l'euthanasie des animaux utilisés en science. (2010) from : <http://www.ccac.ca>

Cesarovic N. and al (2010). Isoflurane and sevoflurane provide equally effective anaesthesia in laboratory mice. *Laboratory Animals* (2010) 44, 329-336.

CNRS. Euthanasie des animaux de laboratoire. from : <http://ethique.ipbs.fr/euthanasie.html>

Combrisson, H. (2002). Anesthésie des animaux de laboratoire (Site du Comité d'éthique en matière d'expérimentation animale Auvergne : <https://www1.clermont.inra.fr/cemeaa/index.php/veille/8-analgeiques-et-anesthesie/23-anesthesie-des-animaux-de-laboratoire.html> 2012-03-12). Club d'anesthésie vétérinaire, 1–5.

Commissaris R.L., Semeyn D.R., Rech R.H. (1982). Disposition without functional tolerance to the hypothermic effects of pentobarbital in the rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1982, 220, 536-539.

Conseil de l'Europe. (2010) Convention Européenne sur la protection des animaux vertébrés utilisés à des fins expérimentales ou à d'autres fin scientifiques. Texte original. 14 Juin 2010.

Cruz J.I, Loste J.M, Burzaco O.H (1998). Observations on the use of medetomidine/ketamine and its reversal with atipamezole for chemical restraint in the mouse. *Laboratory Animals* (1998) 32, 18-22.

D'Alecy L., Zambricki E.(2004) Rat sex differences in anesthesia. *American association for laboratory animal science*. 54(1), 49-53.

Didier Schilliger, L. R. F. B. (n.d.). vade-mecum d'anesthésie des NAC. MED'COM.

Diehl, K. H., Hull, R., Morton, D., Pfister, R., Rabemampianina, Y., Smith, D., Vidal, J. M., et al. (2001). A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes. *Journal of Applied Toxicology*, 21(1), 15–23.

FELASA. FELASA recommendations on the education and training of persons working with laboratory animals : Categories A and C. Reports of the Federation of European Laboratory Animal Science Associations Working Group on education accepted by the FELASA Board of Management. *Laboratory Animals* (1995) 29, 121-131.

Fitzner Toft, M., Petersen, M. H., Dragsted, N., & Hansen, A. K. (2006). The impact of different blood sampling methods on laboratory rats under different types of anaesthesia. *Laboratory Animals*, 40(3), 261–274. doi:10.1258/002367706777611433

Flecknell, P. (2009). *Laboratory Animal Anaesthesia*, Third Edition (3rd ed. p. 304). Academic Press.

Frank, S. (2001). Consequences of hypothermia. *Current Anaesthesia and Critical Care*, 12(2), 79–86. doi:10.1054/cacc.2001.0330

GIRCOR. (2008). Guide de l'évaluation éthique des protocoles. LASeth. Retrieved October 14, 2011, from <http://www.gircor.net/qui/guideEvaluationEthique.pdf>

GIRCOR. (n.d.). Mieux comprendre l'étude sur l'animal -2004. gircor.net. Retrieved March 12, 2012, from <http://www.gircor.net/qui/BrochureGircor.pdf>

Guillen J. Special Topic Overview : FELASA Guidelines and Recommendations. *JAALAS* Vol 51, No 3, 2012, 311-321.

Haberham Z.L., Van den brom W.E., Venker-van Haagen A.J., Baumans V., De groot H.N.M., Hellebrekers L.J. (1999). EEG evaluation of reflex testing as assessment of depth of pentobarbital anaesthesia in the rat. *Laboratory animals*, 33, 47-57.

Hans, H., & Hedrich, H. (Eds.). (2004). *The Laboratory Mouse (Handbook of Experimental Animals)*. (H. Hans & H. Hedrich, Eds.) (1st ed. p. 656). Academic Press.

Hawk C.T., Leary S.L, Morris T.H (2005). *Formulary for laboratory animals*. Third edition Blackwell Publishing.

Hayton, S. M., Kriss, A., & Muller, D. P. (1999). Comparison of the effects of four anaesthetic agents on somatosensory evoked potentials in the rat. *Laboratory Animals*, 33(3), 243–251.

Hedenqvist P., Roughan J.V., Flecknell P.A. (2000) Effects of repeated anaesthesia with ketamine/medetomidine and of pre-anaesthetic administration of buprenorphine in rats. *Laboratory Animals* (2000) 34, 207-211.

Hu, C., Flecknell, P. A., & Liles, J. H. (1992). Fentanyl and medetomidine anaesthesia in the rat and its reversal using atipamazole and either nalbuphine or butorphanol. *Laboratory Animals*, 26(1), 15–22.

Janssen, B. J. A., De Celle, T., Debets, J. J. M., Brouns, A. E., Callahan, M. F., & Smith, T. L. (2004). Effects of anesthetics on systemic hemodynamics in mice. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*, 287(4), H1618–24. doi:10.1152/ajpheart.01192.2003

Jiang W., Buchele F., Papazoglou A., Dobrossy M., Nikkhah G. (2009). Ketamine anaesthesia interferes with the quinolinic acid-induced lesion in a rat model of Huntington's disease. *Journal of Neuroscience Methods* 179 (2009) 219-223.

Junot S. (2012). *Analgesie des animaux de laboratoire*. Cours Expérimentation animale ENSV 2011

Karas A.Z (2006). Barriers to assessment and treatment of pain in laboratory animals. *Lab Animal* Volume 35, N°7, 2006, 38-45.

Kohn D.F., Wixson S.K., White W.J., Benson G.J. (1997). Anesthesia and analgesia in laboratory animals. (p.426). American college of laboratory animal medicine series.

Krinke, G. J., Bullock, G. R., & Bunton, T. (2000). The Laboratory Rat (Handbook of Experimental Animals) (1st ed. p. 756). Academic Press.

Kuipers, F., Dijkstra, T., Havinga, R., van Asselt, W., & Vonk, R. J. (1985). Acute effects of pentobarbital-anaesthesia on bile secretion. *Biochemical Pharmacology*, 34(10), 1731–1736.

Laroche. (1997). Les animaux de laboratoire: éthique et bonnes pratiques (p. 393). Editions Masson.

Legifrance. Code Rural from:  
[www.legifrance.gouv.fr/WAspad/VisuArticleCode?commun=CRURAL&h0=CRURALNM.rcv&h1=2&h3=50](http://www.legifrance.gouv.fr/WAspad/VisuArticleCode?commun=CRURAL&h0=CRURALNM.rcv&h1=2&h3=50) (2 sur 2)26/06/2005 17:23:42

Lichtenberger M. (2007). Anesthesia and Analgesia for Small Mammals and Birds. *Vet Clin Exot Anim* 10 (2007) 293–315.

Lumb et Jones' (2007). *Veterinary anesthesia and analgesia* (p.1096). Blackwell 4<sup>th</sup> Edition

Majewski-Tiedeken, C. R., Rabin, C. R., & Siegel, S. J. (2008). Ketamine exposure in adult mice leads to increased cell death in C3H, DBA2 and FVB inbred mouse strains. *Drug and alcohol dependence*, 92(1-3), 217–227. doi:10.1016/j.drugalcdep.2007.08.009

Mellor D.J, Thornber P.M, Bayvel A.C., Kahn S. (2009). Evaluation scientifique et gestion de la douleur animale. Organisation Mondiale de la santé, Série technique, Volume 10, 2009.

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche. Charte Nationale portant sur l'éthique de l'expérimentation animale. 2008. From: [http://cache.media.enseignementsup-recherche.gouv.fr/file/Science\\_et\\_societe/11/8/chartexpeanimale\\_20-01-09\\_62118.pdf](http://cache.media.enseignementsup-recherche.gouv.fr/file/Science_et_societe/11/8/chartexpeanimale_20-01-09_62118.pdf)

Mulder J.B. (1978). Anesthesia in the mouse using a combination of ketamine and promazine. *Laboratory animal science*. 28(1), 70-71.

Office Vétérinaire Fédéral. Anesthésie et analgésie conformes à la protection des animaux chez les rongeurs de laboratoire et les lapins. 800.116-3.02.

Orr, H. E., Roughan, J., & Flecknell, P. A. (2005). Assessment of ketamine and medetomidine anaesthesia in the domestic rabbit. *Veterinary anaesthesia and analgesia*, 32(5), 271–279. doi:10.1111/j.1467-2995.2005.00211.x

Pinkel D. (1958). The use of body surface area as a criterion of drug dosage in cancer chemotherapy. *American association for Cancer Research* 1958;18:853-856.

Szczesny G., Veihelmann A., Massberg S., Nolte D. & Messmer K. (2004). Long-term anaesthesia using inhalatory isoflurane in different strains of mice-the haemodynamic effects. *Laboratory Animals* (2004) 38, 64-69.

Self I. (2007). A basic approach of small mammals anaesthesia. *Irish Veterinary Journal* Volume 60 Number 2.

Siddiq, T., Richardson, P. J., Hashim, I. A., Marway, J. S., & Preedy, V. R. (1991). The effects of acutely administered anaesthesia on various plasma analytes, insulin and growth hormone concentrations and rates of cardiac and skeletal muscle protein synthesis in vivo in the rat. *Biochemical Society Transactions*, 19(2), 196S.

Sirois, M. (2004). *Laboratory Animal Medicine: Principles and Procedures*, 1e (1st ed. p. 368). Mosby.

Stokes, E. L., Flecknell, P. A., & Richardson, C. A. (2009). Reported analgesic and anaesthetic administration to rodents undergoing experimental surgical procedures. *Laboratory Animals*, 43(2), 149–154. doi:10.1258/la.2008.008020

Struck et al. (2011). Effect of a Short-term Fast on Ketamine–Xylazine anesthesia in Rats. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 50(3), 344–348.

Suckow, M. A., Weisbroth, S. H., & Franklin, C. L. (Eds.). (2005). *The Laboratory Rat*, Second Edition (American College of Laboratory Animal Medicine). (M. A. Suckow, S. H. Weisbroth, & C. L. Franklin, Eds.) (2nd ed. p. 928). Academic Press.

Szczeł̄sny Z., Veihelmann A., Massberg S., Nolte D. & Messmer K. (2004). Long-term anaesthesia using inhalatory isoflurane in different strains of mice—the haemodynamic effects.

*Laboratory Animals Ltd. Laboratory Animals* (2004) 38, 64–69

Tremoleda J.L, Kerton A, Gsell W. (2012). Anaesthesia and physiological monitoring during in vivo imaging of laboratory rodents : considerations on experimental outcomes and animal welfare. *EJNMMI Research* 2012, 2:44.

UCSF IACUC. (n.d.). UCSF IACUC. UCSF IACUC. Retrieved March 12, 2012, from <http://www.research.ucsf.edu/aw/Proc/awDosages.asp>

Université d'Alexandrie. Formation à l'expérimentation animale. Abeer El Wakil. 2009-2010.

Université de Laval. Théorie animaux de laboratoire. Mai 2012

UQTR. Université du Québec à Trois Rivières. (2011). Formation théorique pour les utilisateurs de rongeurs.

Waterman, A. E., & Livingston, A. (1978). Effects of age and sex on ketamine anaesthesia in the rat. *British journal of anaesthesia*, 50(9), 885–889.

Weary D.M, Niel L., Flower F.C, Fraser D. (2006). Identifying and preventing pain in animals. *Applied Animal Behaviour Science* 100 (2006) 64-76

Whelan G., Flecknell P.A. (1992). The assessment of depth of anaesthesia in animals and man. *Laboratory Animals* (1992) 26, 153-162.

Wixson, S. K., White, W. J., & Benson, G. J. (1997). Anesthesia and Analgesia in Laboratory Animals. (D. F. Kohn, Ed.) (p. 450). Academic Press.

Wolfensohn, S., & Lloyd, M. (2003). Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare (3rd ed. p. 432). Wiley-Blackwell.

# ANNEXES

## 1 ANNEXE 1 : Avancées de la recherche et expérimentation animale

# Avancées de la Recherche Médicale et expérimentation animale

PRIX NOBEL DE MEDECINE ET DE PHYSIOLOGIE OBTENUS DEPUIS 1901  
POUR DES DÉCOUVERTES S'APPUYANT SUR DES MODÈLES ANIMAUX

1901	E. A. von Behring (All.)	Développement d'un sérum anti-diphtérique	Cobayes	
1902	R. Ross (G.-B.)	Étude du cycle de l'agent du paludisme	Pigeons	
1904	L. P. Rowell (Russ.)	Physiologie de la digestion	Chiens	
1905	B. Sachs (All.)	Étude de la tuberculose	Volailles, moutons	
1906	C. Golge (It.), S. Ramón y Cajal (Esp.)	Étude sur le système nerveux central	Chiens, chevaux	
1907	A. Lewin (Fr.)	Travaux sur le paludisme	Chevaux	
1908	P. Ehrlich (All.), I. Metchnikov (Russ.)	Relations immunitaires et fonctions des phagocytes	Chevaux, poissons, Cobayes	
1909	T. Kocher (Suisse)	Physiologie, pathologie et chirurgie de la glande thyroïde		
1910	A. Kossel (All.)	Étude de la chimie des collaïdes	Chevaux	
1911	A. Carmel (Fr.)	Sérum et greffe de vaisseaux sanguins	Chiens	
1911	C. Richet (Fr.)	Mécanismes de l'anaphylaxie	Chiens, lapins	
1919	J. Bordet (Belg.)	Mécanismes de l'immunité	Cobayes, chevaux, lapins	
1920	A. Krogh (Dan.)	Contribution à l'étude de la régulation motrice des capillaires	Grenouilles	
1922	A. V. Hill (G.-B.), O. Meyerhof (All.)	Consommation de l'oxygène et métabolisme de l'acide dans le muscle	Grenouilles	
1922	F. G. Banting (Can.), J. R. Macleod (Can.)	Découverte de l'insuline et métabolisme du diabète	Chiens, lapins, poissons	
1924	W. Einthoven (P.-B.)	L'électrocardiogramme	Chiens	
1928	C. Nicolle (Fr.)	Pathogénèse du typhus	Singes, Cobayes, rats, porcs	
1929	C. Elman (P.-B.), I. G. Hopkins (G.-B.)	Découverte de vitamines stimulant le croissance	Poulets	
1932	C. S. Sherrington (G.-B.), I. D. Adrian (G.-B.)	Fonction des neurones	Chiens, chats	
1933	T. H. Morgan (USA)	Découverte dans le mûre des chromosomes dans l'hérédité	Drosophile	
1934	G. H. Wiggles (USA), W. R. Murphy (USA), G. R. Minot (USA)	Talémie néphrotique de l'homme	Chiens	
1935	H. Spemann (All.)	Effet "organisateur" dans le développement embryonnaire	Grenouilles, onctres	
1936	H. H. Dale (G.-B.), O. Loewi (Autr.)	Transmission chimique de l'impulsion nerveuse	Chiens, grenouilles, oiseaux, reptiles	
1938	C. Heymans (Belg.)	Rôle des sinus et des mécanismes artériels dans la régulation de la respiration	Chiens	
1939	G. Domagala (All.)	Effets antibactériens du pénicilline	Souris, lapins	
1943	E. A. Doisy (USA), H. Dan (Dan.)	Découverte de la fonction de la vitamine K	Rats, chiens, poulets, souris	
1944	J. Erlanger (USA), H. S. Gasser (USA)	Fonctions spécifiques des collaïdes nerveux	Chiens	
1945	A. Fleming (G.-B.), E. B. Chain (G.-B.), H. H. Florey (Austral.)	Découverte de la pénicilline	Souris	
1947	C. E. Cori (USA), G. T. Cori (USA), B. A. Housay (Arg.)	Conversion catalytique du pyruvate ; rôle de l'oxydase dans le métabolisme du sucre	Grenouilles, chiens, crapauds	
1949	A. C. de Abreu Frenet (Esp. Mexic), W. R. S. Hoar (Suisse)	Organisation fonctionnelle du cerveau en tant que régulateur des organes internes	Chiens	
1950	F. S. Hench (USA), T. C. Kendall (USA), T. Reichstein (Suisse)	Rôle anti-inflammatoire des hormones surrénaliennes	Vaches	
1951	M. Theiler (Sud.-africain)	Vaccin contre la fièvre jaune	Singes, souris	
1952	S. A. Waksman (USA)	Découverte de la streptomycine, le premier antibiotique efficace contre la tuberculose	Cobayes	
1952	H. A. Krebs (G.-B.), A. L. Lehman (USA)	Caractérisation du cycle de l'acide citrique	Pigeons	
1954	J. E. Lindberg (USA), T. H. Weller (USA), E. C. Robberts (USA)	Travaux sur la poliomyélite - Développement de vaccins	Singes, souris	
1955	A. H. T. Thomas (Suisse)	Nature et mode d'action des enzymes oxydatives	Chevaux	
1957	D. Lewis (Fr.)	Synthèse de molécules à action inhibitrice sur le système vasculaire et le muscle squelettique	Chiens, lapins	
1960	F. H. Barnett (Austral.), F. R. Macleod (G.-B.)	Compréhension de la tolérance immunitaire acquise	Lapins	
1961	G. von Seleny (USA)	Mécanismes physiologiques de la stimulation de l'ovulation interne	Cobayes	
1962	A. L. Hodgkin (G.-B.), I. Huxley (G.-B.), C. Eccles (Austral.)	Mécanismes ioniques impliqués dans l'excitation et l'inhibition des porteurs périphériques et contrôle des membranes de collaïdes nerveux	Chiens, grenouilles, crabes, coléoptères	
1964	K. E. Bloch (USA), E. Lysen (Norv.)	Régulation du métabolisme du cholestérol et des acides gras	Rats	
1964	F. P. Rose (USA), C. B. Hughes (USA)	Virus induisant des tumeurs et traitements hormonaux des cancers	Rats, lapins, poulets	
1967	R. Gross (Suisse), H. K. Hartline (USA), G. Wald (USA)	Processus physiologiques et chimiques de la vision	Poulets, lapins, poissons, crabes	
1968	R. H. Holley (USA), G. Khoury (USA), M. Nirenberg (USA)	Interprétation du code génétique et son rôle dans la synthèse des protéines	Rats	
1970	J. Axelrod (USA), B. Katz (G.-B.), U. von Euler (Suisse)	Mécanismes de stockage et relargage des neurotransmetteurs	Chiens, rats	
1971	E. Sutherland (USA)	Mécanismes d'action des hormones	Foie de mammifères	
1972	G. Edelman (USA), R. Porter (G.-B.)	Structure chimique des anticorps	Cobayes, lapins	
1972	F. Lorenz (Autr.), K. von Frisch (Autr.), N. Tinbergen (P.-B.)	Organisation sociale et comportementale des animaux en groupe	Chevaux, poissons, abeilles	
1974	A. Claude (Belg.), C. de Duve (Belg.), G. Palade (USA)	Organisation structurale et fonctionnelle des cellules	Poulets, Cobayes, rats	
1975	H. H. Benoit (USA), R. Dubosco (USA), D. Baltimore (USA)	Interaction entre les virus oncogènes et le génome	Singes, chevaux, poulets, souris	
1976	C. Geylson (USA), S. S. Eisenberg (USA)	Nouveaux mécanismes pour l'origine et la dissémination des maladies	Chimpanzés	
1977	R. Gallstein (USA), A. V. Schally (USA), R. Yalow (USA)	Hormones hypothalamiques	Moutons, cochons	
1979	A. M. Cormack (N.-B. du S.), G. N. Hounsfield (G.-B.)	Invention de la tomographie assistée par ordinateur (TAC)	Cochons	
1980	J. Dausset (Fr.), G. D. Snell (USA), B. Beutner (USA)	Découverte et étude de la fonction du complexe majeur d'histocompatibilité	Souris, Cobayes	
1981	D. H. Hubel (USA), W. S. Hoar (USA), T. N. Wiesel (Suisse)	Traitement des informations visuelles par le cerveau	Chiens, singes	
1982	S. K. Bergström (Suisse), I. Samoksson (Suisse), J. B. Vane (G.-B.)	Découverte des prostaglandines	Rats, lapins, Cobayes	
1984	N. Jerns (Dan.), G. Köhler (RFA), C. Milstein (G.-B.)	Technique de formation des anticorps monoclonaux	Souris	
1985	M. S. Brown (USA), J. L. Goldstein (USA)	Découverte de la régulation du métabolisme du cholestérol	Souris, rats	
1986	S. Cohen (USA), R. Levi-Montalcini (It. et USA)	Facteur de croissance des nerfs (NGF) et facteur de croissance épidermique (EGF)	Souris, poissons, serpents	
1987	Taniguchi Susumu (Jap.)	Découverte des principes génétiques gouvernant la diversité des anticorps	Embryons de souris	
1988	J. Black (G.-B.), G. B. Sloan (USA), G. H. Hitchcock (USA)	Découvertes des facteurs les plus importants pour la conception de médicaments	Souris, rats, lapins	
1989	M. Bishop (USA), H. Varmus (USA)	Origine cellulaire des rétrovirus oncogènes	Poulets	
1990	J. E. Murray (USA), I. D. Thomas (USA)	Technique de transplantation d'organes	Chiens	
1991	E. Nisler (Autr.), B. Salmann (Autr.)	Compartimentation chimique entre les collaïdes	Grenouilles	
1995	E. S. Lewis (USA), C. Nüsslein-Volhard (Autr.), E. K. Wieschaus (Suisse)	Contrôle génétique du développement embryonnaire précis	Drosophile	
1996	F. Doherty (Austral.), R. Zinkernagel (Suisse)	Reconnaissance par le système immunitaire des cellules infectées par un virus	Souris	
1997	S. Prusiner (USA)	Découverte des prions	Souris, hamsters	
1998	Robert F. Foy, Louis J. Ignarro, Ferid Murad	Régulation de la pression sanguine par l'oxyde nitrique (NO)	Lapins	
1999	Günther Blobel (USA)	Découverte de signaux intracellulaires des protéines permettant leur localisation et leur transport dans la cellule	Souris, rats, chiens	
2000	Arvid Carlsson (Suisse), Paul Greengard (USA), Eric R. Kandel (USA)	Découvertes sur la transduction du signal dans le système nerveux	Souris, tritons	
2001	Leland H. Hartwell (USA), R. Timothy Hunt (G.-B.), Sir Paul M. Nurse (G.-B.)	Découverte de mécanismes régulateurs du cycle cellulaire	Grenouilles	
2001	Sydney Brenner (G.-B.), John Sulston (G.-B.), Robert Horvitz (USA)	Régulation génétique du développement des organes et de la mort cellulaire	Nématodes	
2001	Paul C. Lauterbur (USA), Sir Peter D. Mitchell (G.-B.)	Découverte de la RMN	Grenouilles	

ÉLABORÉ EN COLLABORATION AVEC LE CRIC - PRIXSIA - PAGES 104-105 (REVUE) DU CRIC



## 2 ANNEXE 2 : Tableaux récapitulatifs des modalités d'analgésie et d'anesthésie chez le rat et la souris (Laboratory animal Anaesthesia, Flecknell et UCSF, IACUC)

### 2.1 Prémédication chez la souris :

<b>Agents de prémédication</b>	<b>Posologies / Voies d'injection</b>	<b>Commentaires</b>
<b>Fentanyl/Fluanisone</b>	0,2-0,5 m/kg IM	Faible dose : <u>sédation</u> et légère <u>analgésie</u>
ND : HYPNORM <sup>®</sup>	0,3-0,6 mL/kg IP	Forte dose : Analgésie suffisante pour biopsies cutanées ou ponctions cardiaques (GREEN 1975)
		Risque de dépression respiratoire
		Antidote : Butorphanol, naloxone, nalbuphine
<b>Médétomidine</b>	30-100 µg/kg SC	Légère à forte <u>sédation</u>
	Certaines souches : 300 µg/kg	Forte dose : perte du réflexe de redressement
		Faible analgésie : Radiographies (VIRTANEN 1989)
		Diminution du taux d'agent volatil de 60 %
<b>Xylazine</b>	1-5 mg/kg IM ou IP	<u>Sédation</u> légère à modérée
		Faible analgésie
		Potentialise les autres agents
<b>Acepromazine</b>	2,5 mg/kg IM ou IP	Légère <u>sédation</u> et absence d'analgésie
<b>Diazépam/Midazolam</b>	2,5-5 mg/kg IM ou IP	Légère <u>sédation</u> et absence d'analgésie

## 2.2 Prémédication chez le rat :

<b>Agents de prémédication</b>	<b>Posologies / Voies d'injection</b>	<b>Commentaires</b>
<b>Fentanyl/Fluanisone</b>	0,2-0,5 m/kg IM	Faible dose : <u>sédation</u> et légère <u>analgésie</u>
ND : HYPNORM <sup>®</sup>	0,3-0,6 mL/kg IP	Forte dose : Analgésie suffisante pour biopsies cutanées ou ponctions cardiaques (GREEN 1975)
		Risque de dépression respiratoire
		Antidote : Butorphanol, naloxone, nalbuphine
<b>Médétomidine</b>	30-100 µg/kg SC	Légère à forte <u>sédation</u>
	Certaines souches : 300 µg/kg	Forte dose : perte du réflexe de redressement
		Faible analgésie : Radiographies (VIRTANEN 1989)
		Diminution du taux d'agent volatile de 60 %
<b>Xylazine</b>	1-5 mg/kg IM ou IP	<u>Sédation</u> légère à modérée
		Faible <u>analgésie</u>
		Potentilise les autres agents
<b>Acepromazine</b>	2,5 mg/kg IM ou IP	Légère <u>sédation</u> et absence d'analgésie
<b>Diazépam/Midazolam</b>	2,5-5 mg/kg IM ou IP	Légère <u>sédation</u> et absence d'analgésie

### 2.3 Agents anesthésiques injectables (UCSF IACUC, n.d)

<b>Anesthésiques "fixes"</b>	<b>Posologies / Voies d'injection</b>	<b>Commentaires</b>
<b>Kétamine/Xylazine</b>	75-100 mg/kg (Keta)	La combinaison recommandée.
	5-10 mg/kg (Xyla)	Repousser avec de la kétamine seule.
	IP	Partiellement réversible : atipamezole, yohimbine
		Dans la même seringue.
<b>Kétamine/Médétomidine</b>	75-100 mg/kg (Keta)	Repousser avec de la kétamine seule.
	0,5-1 mg/kg (Medeto)	Partiellement réversible : atipamezole, yohimbine
	IP	Dans la même seringue.
<b>Kétamine/Xylazine/ACP</b>	75-100 mg/kg (Keta)	Repousser avec de la kétamine seule.
	2-6 mg/kg (Xyla)	Partiellement réversible : atipamezole, yohimbine
	1-2 mg/kg (ACP)	Dans la même seringue.
<b>Kétamine/midazolam</b>	75-100 mg/kg (Keta)	Utile pour de simples contraintes
	4-5 mg/kg (Midaz)	Dans la même seringue.
	IP	
<b>Kétamine</b>	75-100 mg/kg (Keta)	<u>Sédation profonde</u> mais non chirurgicale
	IP	Rarement utilisée seule
<b>Pentobarbital</b>	40-50 mg/kg	Recommandé pour des procédures <u>sans réveil</u>
	IP	Sinon, utiliser en parallèle un opioïde ou un AINS

### 3 ANNEXE 3 : Paliers de la douleur (affiche effectuée par le Dr Samuel Vidal, au nom du Comité Régional d’Ethique en Expérimentation Animale Rhône Alpes, 2007)

## LA DOULEUR DE L'ANIMAL AU COURS D'UNE EXPERIMENTATION

La douleur est une expérience sensorielle et/ou émotionnelle désagréable causée par une atteinte tissulaire réelle ou potentielle qui provoque des réactions motrices et végétatives protectrices conduisant à la modification du comportement spécifique de l'individu (International Association for the Study of Pain).

La gestion de la douleur chez l'animal de laboratoire doit comprendre plusieurs étapes :

- 1 Le classement du protocole envisagé selon le palier de douleur prévisible,
- 2 La mise en place d'un protocole analgésique préalable à l'intervention,
- 3 La reconnaissance des signes de la douleur ; observation de l'animal avant et après la procédure,
- 4 L'évaluation régulière du palier de douleur constatée après l'intervention et mise en place du traitement adapté.

Attention à ne pas confondre agents anesthésiques qui souvent ne font qu'abolir la perception du message douloureux et agents analgésiques qui permettent de limiter la genèse du message douloureux.

### 1 Les signes de la douleur (liste non exhaustive)

#### Des signes communs à toutes les espèces

Signes physiologiques :	Signes comportementaux :	Apparences :
Tachycardie Augmentation Fréquence Respiratoire Modifications neuroendocrines	Réduction de l'appétit Diminution du comportement exploratoire Fuite ou défense à la manipulation Vocalises Automutilation dans les cas graves	Poils piqué, ternes, mal entretenus Expression faciale ou regard modifiés Posture inhabituelle

#### Des signes spécifiques

<ul style="list-style-type: none"> <li>-Inertivité puis leulement et incontinence par regard ou bruit audible</li> <li>-Modification des périodes de sommeil</li> <li>-Fugitivité</li> <li>-Des vocalises</li> <li>-Faux entente</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Troubles digestifs</li> <li>-Déshydratation</li> <li>-Inertivité</li> <li>-Changement de dents</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Apathie</li> <li>-Pâleur et pâlissement</li> <li>-Regard anxieux</li> <li>-Inertivité</li> <li>-Apparition et fréquence accrues des vocalises</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Absence de recherche alimentaire (privation du fourrage)</li> <li>-Apathie</li> <li>-Circulation prolongée</li> <li>-Modifications des vocalises</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Posture recroquevillée</li> <li>-Furiosité</li> <li>-Inertivité</li> <li>-Refus d'entendre du palpe</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Apathie et incontinence</li> <li>-Déshydratation</li> <li>-Changement de dents pour les cas graves</li> </ul>
---	---	--	---	--	---

### 2 Description des paliers de douleur prévisibles

Palier 0	Palier 1	Palier 2	Palier 3
<b>ABSENCE</b>	<b>LÉGÈRE</b>	<b>MODÉRÉE</b>	<b>SÉVÈRE</b>
	Exemples : biopsie cutanée, prise de sang rétroorbitaire, chirurgie cutanée peu douloureuse (voie d'abord pour cathétérisme), injection de produits faiblement irritants	Exemples : laparotomie exploratrice, débridement tissulaire modéré, injection de produits fortement irritants	Exemples : chirurgie entraînant des troubles persistants, débridements tissulaires importants

### 3 Schéma thérapeutique

Le choix des méthodes d'analgésie et des molécules est vaste, il doit être adaptée à chaque cas et à chaque espèce, L'analgésie sera si possible préventive sinon curative et régulièrement ajustée en fonction des observations renouvelées sur l'animal.

Palier 0	Palier 1	Palier 2	Palier 3
<b>ABSENCE</b>	<b>LÉGÈRE</b>	<b>MODÉRÉE</b>	<b>SÉVÈRE</b>
	<b>AINS (ou autre analgésique faible) ou Morphinique dose faible</b>	<b>Morphinique dose faible à moyenne +/- AINS +/- Anesthésique local</b>	<b>Morphinique dose moyenne à forte +/- AINS +/- Anesthésique local</b>
Exemples d'AINS : kétoprofène, méloxicam, carprofène, phénybutazone, acide acétylsalicylique, et agents analgésiques faibles : paracétamol (contre-indiqué chez le chat)	Exemples de morphiniques : morphine, buprénorphine, fentanyl, mépéridine	Exemples d'anesthésiques locaux : localaine, bupivacaine	

Remarques :  
Comité d'Ethique, Service d'Anesthésie-Analgésie-Réanimation et Bureau de la Communication de l'École Nationale Vétérinaire de Lyon  
Diffusion avec l'aide du CNRS

## 4 ANNEXE 4 : Conséquences de l'hypothermie (Franck, 2001)

---

<b>Système</b>	<b>Effets</b>
<b>Métabolisme</b>	Les tremblements post-opératoires augmentent de 40% la consommation en O <sub>2</sub> (max : 100%)
<b>Respiratoire</b>	Une perte de 1°C diminue de 5 % les besoins des tissus en O <sub>2</sub> . Augmentation de l'affinité de l'hémoglobine pour l'O <sub>2</sub> .
<b>Sympathique</b>	Augmentation de la concentration de norépinephrine de 100-500%. Peu ou absence de réponse des cortico/médullo-surrénales.
<b>Cardio-vasculaire</b>	Vasoconstriction, augmentation de la pression artérielle, augmentation des risques post-opératoires de défaillance cardiaque (dysrythmies, ischémie...)
<b>Coagulation</b>	Altération du rôle des plaquettes et de la cascade de coagulation. Fibrinolyse augmenté.
<b>Immunitaire</b>	Altération des neutrophiles et des macrophages. Diminution de la pression partielle des tissus en O <sub>2</sub> . Augmentation du risque d'infections.
<b>Pharmacocinétique</b>	Diminution des effets des inhibiteurs neuro-musculaires mais action prolongée. Diminution de la CAM des agents anesthésiques volatils.

## 5 ANNEXE 5 : Procédure de la séance d'enseignement pratique d'anesthésie des rongeurs (version novembre 2012)

---

### a Objectif

Comparer des techniques courantes d'anesthésie et réaliser des gestes techniques qui nécessitent aseptie et anesthésie-analgésie chez les rongeurs. Les procédures et posologies seront celles usuellement trouvées dans la bibliographie (modifiées d'après Cruz et al, 1998 et Hawk et al, Formulary 2005).

### b Lieu

Salle de travaux pratiques en expérimentation animale de VetAgro Sup.

### c Personnel : encadrants et participants

Effectif maximum de 16 stagiaires.

Deux enseignants et si possible un technicien.

### d Animaux (origine, hébergement – acclimatation des animaux, spécificités, devenir)

10 souris mâles de 28-30g (colonie outbred, statut SPF).

Les animaux sont euthanasiés en fin de séance par injection IP ou IC d'une surdose de pentobarbital :

- avant le réveil en cas d'hypothermie <33°C ou si l'anesthésie est prolongée au-delà de 45 minutes.
- avant de procéder à un geste invasif ou douloureux si l'anesthésie apparaît insuffisante
- juste après le réveil si celui-ci est effectué dans un but pédagogique (par injection IP).

### e Déroulé de la séance

- Répartition des protocoles à chaque binôme/trinôme
- Lecture du protocole
- Lavage des mains de manière aseptique
- Mise en tenue : surblouse et gants
- Vérifier l'équipement d'anesthésie gazeuse et Calculer la dose adéquate à administrer (avec le tableau fourni) en fonction du protocole

- Attraper une souris : l'identifier (au l'Oréal) aux différents endroits proposés dans le tableau, la peser et réaliser un examen clinique
- Réaliser l'anesthésie
- Administrer du meloxicam, AINS en prévention de la douleur, à 1 mg/kg en SC dès la perte de conscience.
- Appliquer du gel oculaire Lacryvisc si les yeux sont ouverts
- Suivi de l'anesthésie en remplissant le tableau fourni
- Tondre ou raser le flanc puis désinfecter afin de réaliser une injection ID de 50 µL d'eau phy

Utiliser une aiguille de 27-30G avec le biseau vers le haut et un angle de 10-30°. Faire une pause de 5 secondes avant de la retirer.

- Une injection IV de 100 µL d'eau phy stérile et des prises de sang par les différentes voies de prélèvement peuvent être réalisées dans la limite de 200 µL par souris.
- Effectuer les gestes invasifs suivants :
  - Pose d'un transpondeur (dispositif injectable)
  - Coupe de dents
  - Tatouage

f Matériel et produits utilisés pour l'enseignement pratique d'anesthésie des rongeurs

Matériel et consommables :

- Aiguilles, seringues pour administrations et prélèvements chez la souris : seringues de 1 et 2 mL, aiguilles de 24-27G.
- Cages, balances, tapis chauffant thermostaté à 35-37°C (matériel vétérinaire pour petits animaux ou système de terrariophilie), ruban chauffant thermostaté à 35-37°C sous la cage de réveil, thermomètres (sonde rectale BioSeb), minuteurs
- Kit désinfection : alcool 70°, Vétédine, compresses, lames scalpel (tonte, biopsie), tondeuses
- Kit coloration : L'Oréal (mélange à préparer dans tube), pinceau
- Kit identification : boucles auriculaire et pince pour rongeurs, transpondeurs, tatoueur 3 aiguilles à piles
- Kit tenue propre et protection : surblouses, gants jetables (masques si besoin).
- Kit tenue aseptique : gants stériles, masques, champs stériles

- Kit injections ID et IV : sérum physiologique stérile, seringues 500 µL serties 30G
- Matériel/consommables pour « petits gestes » : coupe-dents, petites pinces en plastique souple pour l'évaluation des réflexes à la patte...

#### Anesthésiques et médicaments :

- Analgésique : Méloxicam (dilution extemporanée ; injection SC à 4ml/kg)
- Gel oculaire (Lacryvisc®), sérum physiologique (ampoules stériles), Dopram®
- Atipamezole : Antisedan®
- Anesthésiques vétérinaires : pentobarbital sodique (Ceva®), kétamine (Kétamine 500 Virbac®), Xylazine (Rompun®), médétomidine (Domitor®), isoflurane (Vetflurane®).

	Posologie (mg/kg)	Référence ; concentration (mg/ml)	Dilution	mg/ml après dilution	Voie	Dose produit pour une souris de 30g (µl)
<b>Pentobarbital sodique</b>	50	60	Anesthésie : 1/6	10	IP	25
	120	(CEVA®)	Euthanasie : pur	60	IC/IV	100
<b>Kétamine</b>	100	50	Qsp dans le		IP	60
	75	(Virbac® 500)	mélange anesthésique		IP	45
<b>Xylazine</b>	10	20 (Rompun	1/20	1	IP	8
	5	2%®)	1/10	2	IP	15
<b>Médétomidine</b>	1	1 (Domitor®)	1/4	0,25	IP	30
<b>Atipamezole</b>	1	5 (Antisedan®)	1/20	0,25	SC	6
<b>Meloxicam</b>	1	5 (Metacam® 5inj)	1/20	0,25	SC	6



## 6 ANNEXE 6 : Résultats des séances de TP d'Octobre 2011 et 2012 et Juin 2012

### Abréviations employées :

Anesth : protocole d'anesthésie,

Chau : Chauffage,

rpm : respiration par minute,

atip : atipamezole,

Keta : Kétamine,

Xyla : Xylazine,

Medet : Médétomidine

Conditions : 10 souris mâles OF1 32g. Euthanasie avant réveil de toutes les souris. Atipamezole à 20 minutes.

### **a Octobre 2011**

Anesthésie	Chau	T1	T2	Examen 1	Examen 2	Commentaires
Pentobarbital	Oui	4'25	Non	<u>I</u> : 32,8°C <u>Reflexes</u> : ++ 120 rpm <u>Tonicité</u> : ++	<u>I</u> : 36,4°C 130 rpm	Non opérable
Pentobarbital	Non	3'5	Idem	<u>I</u> : 36,9°C <u>Reflexes</u> : ++ 168 rpm <u>Tonicité</u> : +	<u>I</u> : 31,9°C 108 rpm	Non opérable
Keta-xyla 100/5	Oui	Pas de données		<u>I</u> : 34,2°C <u>Reflexes</u> : +/- 171 rpm	<u>I</u> : 34,8 °C 174 rpm	Cyanose à l'injection : choc vagal ? O2
Keta-xyla 100/5	Non	1'3	4'3	<u>I</u> : 33,7°C <u>Reflexes</u> : ± 167 rpm	<u>I</u> : 31,7 °C <u>Reflexes</u> : - 180 rpm	

Keta-xyla 75/10	Oui	1'3	3'5	<u>I</u> : 38,6 °C Reflexes : - 150 rpm	<u>I</u> : ? 146 rpm	Pb température (tapis, mesure) Bradypnée après prise de température : O2
Keta-xyla 75/10	Non	3'6		<u>I</u> : 32,5 °C Reflexes : ± 126 rpm	<u>I</u> : 30,5 °C 128 rpm	Confusion tonicité/réflexes
Keta-medet	Oui	1'	1'	<u>I</u> : 35,7 °C Reflexes : - 130 rpm	<u>I</u> : 35 °C 150 rpm	T3=44' (atip) : Réversion peu efficace, injections à 32 et 42 min (Pb injections ?)
Keta-medet	Non	1'	4'5	<u>I</u> : 33,8 °C Reflexes : - 160 rpm	<u>I</u> : 31,2 °C 132 rpm	Euthanasie à 40'
Isoflurane	Oui	56''		<u>I</u> : 37 °C Reflexes : - 108 rpm	<u>I</u> : 36,4°C 160 rpm	% à ajuster au long de l'anesthésie.
Isoflurane	Non	56''	3'25	<u>I</u> : 32°C Reflexes : - 74 rpm (O2)	<u>I</u> : 31,6°C 90 rpm	Euthanasie à 20'

b **19 Juin2012**

Anesthésie	Chauf	T1	T2	Examen 1	Examen 2	commentaire
Pentobarbital	Oui	34''		<u>T</u> : 36.1 °C <u>Reflexes</u> : - ? rpm <u>Tonicité</u> : faible	Décès de la souris	
Keta-Xyla 100-5	Non	1'	4'30	<u>T</u> : 35.7 °C <u>Reflexes</u> : +/- 156 rpm <u>Tonicité</u> : +	<u>T</u> : 32.9 °C <u>Reflexes</u> : - 120 rpm <u>Tonicité</u> : +	Urine à la contention Euthanasie à 35'
Keta-Xyla 75-10	Non		6'	<u>T</u> : 36 °C <u>Reflexes</u> : +/- 160 rpm <u>Tonicité</u> : élevée		A 15 min : pattes arrières bougent = Eutha à 22'
Keta-medet	Oui	1'	3'	<u>T</u> : 37 °C <u>Reflexes</u> : - 164 rpm <u>Tonicité</u> : -	<u>T</u> : 36.5 °C <u>Reflexes</u> : - 165 rpm <u>Tonicité</u> : -	T3 = 66'
Keta-medet	Non	2'	10'	<u>T</u> : 35.4 °C <u>Reflexes</u> : - 148 rpm <u>Tonicité</u> : -	<u>T</u> : 31.9 °C <u>Reflexes</u> : +/- 156 rpm <u>Tonicité</u> : -	Respiration faible, urine à 26 min
Isoflurane	Oui	1'10	4'11	<u>T</u> : 36.8 °C <u>Reflexes</u> : - 126 rpm <u>Tonicité</u> : -	<u>T</u> : 37.5°C <u>Reflexes</u> : - 116 rpm <u>Tonicité</u> : -	T3 = 37'10 T4 = 41' Déshydratation visible

c **20 Juin 2012**

Anesthésie	Chauf	T1	T2	Examen 1	Examen 2	commentaire
Pentobarbital	Non	7'16	16' (1/2 dose en plus)	<u>I</u> : 33.6 °C <u>Reflexes</u> : + 110 rpm	<u>I</u> : 32.3 °C <u>Reflexes</u> : + 124rpm	Euthanasie 45'
Keta-Xyla 100-5	Oui	4'34	7'51	<u>I</u> : 34 °C <u>Reflexes</u> :- 125 rpm <u>Tonicité</u> : +	<u>I</u> : 33.5 °C <u>Reflexes</u> :- 116 rpm <u>Tonicité</u> : +	Tapis chauffant non fonctionnel
Keta-Xyla 100-5	Non	1'21	5'57	<u>I</u> : 34.4 °C <u>Reflexes</u> :- 150 rpm <u>Tonicité</u> : +	<u>I</u> : 32.7 °C <u>Reflexes</u> :- 144 rpm <u>Tonicité</u> : +	Euthanasie 42 '
Keta-Xyla 75-10	Oui	2'	2'30	<u>I</u> : 36.7 °C <u>Reflexes</u> :- 180rpm <u>Tonicité</u> :-	<u>I</u> : 36.2 °C <u>Reflexes</u> :- 168rpm <u>Tonicité</u> :-	T3=38'
Keta-Xyla 75-10	Non	4'31	5'	<u>I</u> : 35 °C <u>Reflexes</u> : +/- 154 rpm <u>Tonicité</u> :-	<u>I</u> : 34.9 °C <u>Reflexes</u> : +/- 120rpm <u>Tonicité</u> :-	T3=32' T4=41'
Keta-medet	Oui	1'20	4'	<u>I</u> : 36.1 °C <u>Reflexes</u> :- 152 rpm <u>Tonicité</u> :-	<u>I</u> : 36.1 °C <u>Reflexes</u> :- 152 rpm <u>Tonicité</u> :-	T3 (atip) 40'
Keta-medet	Non	41''	1'50	<u>I</u> : 35.6 °C <u>Reflexes</u> :- 180 rpm <u>Tonicité</u> :-	<u>I</u> : 33.2 °C <u>Reflexes</u> :- 148 rpm <u>Tonicité</u> :-	T3=32 (atip)
Isoflurane	Oui	1'15	5'23	<u>I</u> : 37.7 °C <u>Reflexes</u> :- 144 rpm	<u>I</u> : 36.5°C <u>Reflexes</u> :- 108 rpm	Déshydratation Respiration saccadée Euthanasie à

				<u>Tonicité</u> : +	<u>Tonicité</u> : +	24'30
Isoflurane	Non	1'17	4'	<u>T</u> : 32.3 <u>Reflexes</u> : - 118 rpm <u>Tonicité</u> :-	<u>T</u> : 32.1°C <u>Reflexes</u> : - 120 rpm <u>Tonicité</u> :-	Respiration saccadée

**d 09 Octobre 2012**

Anesthésie	Chauf	T1	T2	Examen 1	Examen 2	commentaire
Pentobarbital	Oui	1'		<u>T</u> : 37.3 °C <u>Reflexes</u> : ++ 156rpm <u>Tonicité</u> :-	<u>T</u> : 36.2 °C <u>Reflexes</u> : + 140rpm <u>Tonicité</u> :-	T3=45'
Pentobarbital	Non	3'	5'	<u>T</u> : 32.7 °C <u>Reflexes</u> : + 120rpm <u>Tonicité</u> : +	<u>Reflexes</u> : ++ <u>Tonicité</u> : +	Tremblements Réveil précoce Euthanasie 30'
Keta-Xyla 100-5	Oui	1'	10'	<u>T</u> : 35.6°C <u>Reflexes</u> : +/- 140 rpm <u>Tonicité</u> : +	<u>T</u> : 34.9°C <u>Reflexes</u> : +/- 140rpm <u>Tonicité</u> : +/-	T3=40'
Keta-Xyla 100-5	Non	47''	11'	<u>T</u> : 31.3 °C <u>Reflexes</u> :- 160rpm <u>Tonicité</u> :-	<u>Reflexes</u> : + 120rpm	
Keta-Xyla 75-10	Oui	2'		<u>T</u> : 36°C <u>Reflexes</u> :- 160rpm <u>Tonicité</u> :-	<u>T</u> : 34.6 °C <u>Reflexes</u> :- 160rpm <u>Tonicité</u> :-	Euthanasie 45'
Keta-Xyla 75-10	Non	2'	3'	<u>T</u> : 36.6 °C <u>Reflexes</u> :- 168 rpm	<u>T</u> : °C <u>Reflexes</u> : +/- 160 rpm	

				<u>Tonicité</u> :-	<u>Tonicité</u> :-	
Keta-medet	Oui	4'	7'	<u>T</u> : 36.4°C <u>Reflexes</u> :- 160rpm <u>Tonicité</u> :-	<u>T</u> : 35.4 °C <u>Reflexes</u> :- 136rpm <u>Tonicité</u> :-	Mouvements intestinaux Dislocation cervicale suite réaction euthanasique T3=50'
Keta-medet	Non	1'	3'	<u>T</u> : 35 °C <u>Reflexes</u> : +/- 180rpm <u>Tonicité</u> :-	<u>T</u> : 36 °C <u>Reflexes</u> :- 180 rpm <u>Tonicité</u> :-	T3= 20' (atip)
Isoflurane	Oui	1'	De suite	<u>T</u> : 36 °C <u>Reflexes</u> :- 72rpm <u>Tonicité</u> : +	<u>T</u> : 34.8°C <u>Reflexes</u> :- 112rpm <u>Tonicité</u> :-	Courbe respiratoire anormale Diminution O2
Isoflurane	Non	1'		<u>T</u> : 32.4 <u>Reflexes</u> :- 80rpm <u>Tonicité</u> :-	<u>T</u> : 32.7 °C <u>Reflexes</u> :- 120rpm <u>Tonicité</u> :-	

**e 10 Octobre 2012**

Anesthésie	Chauf	T1	T2	Examen 1	Examen 2	commentaire
Pentobarbital	Oui	3'33	NO	<u>T</u> : 37.5°C <u>Reflexes</u> : ++ 178rpm <u>Tonicité</u> : +	<u>T</u> : 36 °C <u>Reflexes</u> : + 110rpm <u>Tonicité</u> :-	Injection ½ dose avant Exam 2 : réflexe de grattage, mouvements spontanés
Pentobarbital	Non	2'	NO	<u>T</u> : 34.8 °C <u>Reflexes</u> : ++ 128rpm <u>Tonicité</u> :-	<u>T</u> : 31.5°C <u>Reflexes</u> : + 104 rpm <u>Tonicité</u> :-	Injection ½ dose avant Exam 2. Pas de temps opérable.
Keta-Xyla 100-5	Oui	33''		<u>T</u> : 36°C <u>Reflexes</u> :-	<u>T</u> : 35.5°C <u>Reflexes</u> :-	T4>1h Très bonne qualité

				152 rpm <u>Tonicité</u> :-	152rpm <u>Tonicité</u> :-	
Keta-Xyla 75-10	Oui	1'15		<u>T</u> : 33.5°C <u>Reflexes</u> : +/- 150rpm <u>Tonicité</u> :-	<u>T</u> : 35.4 °C <u>Reflexes</u> : +/- 150rpm <u>Tonicité</u> :-	
Keta-Xyla 75-10	Non	2'	10'	<u>T</u> : 33.7°C <u>Reflexes</u> : +/- 106 rpm <u>Tonicité</u> :-	<u>T</u> : 32.4 °C <u>Reflexes</u> : + <u>Tonicité</u> : +	Euthanasie car T° trop faible
Keta-medet	Oui	3'	9'	<u>T</u> : 37°C <u>Reflexes</u> :- 212rpm <u>Tonicité</u> :-	<u>T</u> : 36.4 °C <u>Reflexes</u> : + 186rpm <u>Tonicité</u> :-	Atip à 20 min en IP au lieu de SC. Anesthésie rapide/profonde/r éversible
Keta-medet	Non	2'26	4'24	<u>T</u> : 33.9 °C <u>Reflexes</u> : - 160 rpm <u>Tonicité</u> : -	<u>T</u> : 31.8 °C <u>Reflexes</u> : -	Euthanasie car T° trop faible
Isoflurane	Oui	1'	2'17	<u>T</u> : 37.2°C <u>Reflexes</u> :- 116 rpm <u>Tonicité</u> : -		
Isoflurane	Non	2'		<u>T</u> : 32°C <u>Reflexes</u> :- 66rpm <u>Tonicité</u> :-		

# 7 Annexe 7 : Affiche « Bien-être et qualité expérimentale au cours de l'anesthésie des rongeurs : organisation d'un enseignement pratique » (Congrès AFSTAL Marseille Juin 2012, Delphine Grezel, Stéphane Junot et Anne Morales). Photos : Méloé Tronche

## Bien-être et qualité expérimentale au cours de l'anesthésie des rongeurs : organisation d'un enseignement pratique



Delphine Grezel (1), Stéphane Junot (1), Anne Morales (2)  
 (1) VetAgro Sup, Campus Vétérinaire de Lyon, (2) Université de Lyon 1

Une anesthésie mal conduite peut compromettre le bien-être animal et la qualité expérimentale : elle peut être insuffisante pour procéder à l'acte prévu, ou altérer sa physiologie. L'enseignement pratique présenté ici a pour objectif de montrer les précautions pour choisir et mettre en œuvre la méthode d'anesthésie.

**Public du TP :**  
 groupe de 16 stagiaires, en formation initiale ou continue de niveau 1 (application possible à d'autres publics).



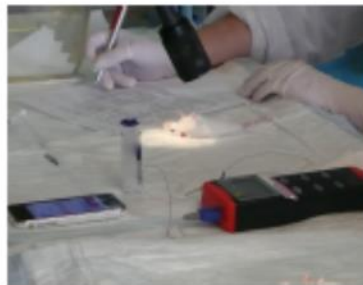
Une revue de la bibliographie (100 articles publiés en 2010, hors publications spécialisées en chirurgie ou anesthésiologie) et une enquête (AniLab, juin 2010) ont identifié les méthodes courantes d'anesthésie chez le souris.  
 La durée et les principaux effets de l'anesthésie sont comparés sur 10 souris anesthésiées avec 5 protocoles, avec ou sans contrôle de l'hypothermie.  
 Des méthodes simples sont utilisées volontairement pour correspondre aux conditions courantes au laboratoire.

### Déroulement du TP (1 souris pour 1 ou 2 étudiants)

<http://www.vetagro.univ-lyon1.fr/2012/02/28/2012-02-28/>

A l'issue de la séance de TP, les protocoles d'anesthésie sont comparés et un grand nombre de considérations aussi bien physiologiques que pratiques sont évoquées. En particulier, de nombreux stagiaires prennent conscience de l'hypothermie rapide et marquée en l'absence de tapis chauffant, et de la nécessité d'adapter les produits et les doses.

- Identification, pesée des souris et examen clinique préalable.
- Préparation des mélanges anesthésiques, calcul des doses par souris.
- Suivi continu de l'anesthésie ; injection sc de meloxicam, pose de gel lacrymal si besoin.
- Réalisation de gestes techniques simples sous anesthésie à la demande des stagiaires (pose de transpondeur, injection intradermique, biopsie cutanée, coupe de dents...).
- Euthanasie des souris par surdosage barbiturique (procédure invasive par la suite).



Formulaire de suivi d'anesthésie :	Souris n° :	Poids :	Examen clinique :		
Tapis chauffant : oui / non	Protocole anesthésie (doses) :				
Déroulé de l'anesthésie :	T1 :	T2 (opérable) :	T3 :	T4 (ou euthanasie) :	
10-15 minutes après T1	Réflexes aléiques :	Tonicité musculaire :	T rectale (°C) :	Fréquence respiratoire (resp/min) :	Autres :
25-30 minutes après T1	"	"	"	"	"
Autres observations : Gestes techniques effectués :				Durée et qualité d'anesthésie : Bilan :	
Mêmes observations : redressement (à l'induction et au réveil), pincement de la queue, pincement de la patte postérieure, palpébris, cornées. T1 = perte du réflexe de redressement (secondaire), T2 = diminution marquée des réflexes au pincement de la queue (Rt) et/ou de la patte postérieure (Rp), T3 = retour du réflexe de redressement, T4 = réveil. La tonicité est extrême à l'étreinte de la patte postérieure. Autres observations : anomalie respiratoire, tremblements/mouvements, état d'hydratation (pli de peau), couleur des muqueuses, degré d'ouverture oculaire, miction... Les souris sont euthanasiées après constatation de T3, de préférence avant réveil complet, au plus tard à 35 min					

Observations	Avec tapis chauffant					Sans tapis chauffant				
	Durée d'anesthésie (sec)	Réflexes et tonicité	Température minimale	Fr minimale	Autres :	Durée d'anesthésie (sec)	Réflexes et tonicité	Température minimale	Fr minimale	Autres :
Isoflurane (4% induction puis 1-2% pendant 30 minutes)	T1 : 60 T2 : 110 T3 < 30 sec après arrêt isoflurane	Rt : - Rp : - T : -	36,4	80 (mais O2 pur)		T1 : 60 T2 : 110 T3 < 30 sec après arrêt isoflurane	Rt : - Rp : - T : -	31,6	64 (mais O2 pur)	
Kétamine-Xylazine (100-5 mg/kg ip)	T1 : 109 T2 non atteint T3 > 35 min	Rt : + Rp : + T : ++	34,7	124	Difficile d'estimer la profondeur d'anesthésie ; YO	T1 : 120 T2 non atteint T3 > 35 min	Rt : + Rp : +/- T : ++	28,6	96	
Kétamine-Xylazine (75-10 mg/kg ip)	T1 : 150 T2 : 420 T3 : 32 min	Rt : - Rp : +/- T : +	35,5	152		T1 : 168 T2 : 405 T3 > 35 min	Rt : - Rp : +/- T : +	29,4	96 (respiration irrégulière)	
Kétamine-Médétomidine (75-1 mg/kg ip) / Atiparnazole 1 mg/kg sc 25 minutes après	T1 : 100 T2 : 360 T3 : 180 sec après A	Rt : - Rp : +/- T : +	35,4	204	Miction ; Réveil rapide après injection Atipa.	T1 : 55 T2 : 300 T3 : 360 sec après A	Rt : - Rp : - T : +	30,6	124	
Pentobarbital (50 mg/kg ip)	T1 : 582 T2 non atteint T3 > 35 min	Rt : + Rp : + T : -	35,9	144	Agitation tout au long de l'anesthésie	T1 : 255 T2 non atteint T3 > 35 min	Rt : + Rp : + T : -	31	112	

(valeurs représentatives de 6 sessions. R) Réflexes : + si conservé, - si absent [les stagiaires apprennent à évaluer les réflexes de façon standardisée : Rt = queue, Rp = patte postérieure]. (T) Tonicité YO : yeux totalement couverts

Mêmes autres observations (sauf l'atiparnazole qui agit plus lentement)

### Bilan de l'enseignement proposé (6 sessions d'enseignement) :

Un questionnaire anonyme d'évaluation du TP a été distribué lors de 3 sessions : les stagiaires confirment la grande utilité du TP, et l'intérêt d'un formulaire de suivi d'anesthésie. Ils estiment que l'éthique est respectée tout au long du TP. Outre son objectif en matière d'anesthésie, le TP contribue à l'acquisition de compétences en matière d'organisation du travail.

**Conclusion :** Ce TP, qui apparaît simple au premier abord, aborde en fait de nombreux thèmes. Les stagiaires novices utilisent les notions théoriques et apprennent comment effectuer une anesthésie dans de bonnes conditions. Les stagiaires expérimentés peuvent discuter leurs pratiques. Le bilan pédagogique est très satisfaisant.

### Résumés et bibliographie :

Remerciements à Méloé Tronche (étudiante vétérinaire) pour les photos de ce poster.

Chez le souris non anesthésié : température moyenne 37,6°C et fréquence respiratoire moyenne 264 resp/min (données extraites de la Mouse Phenome Database <http://www.phenome-lab.org/>, 20/4/2012, études Karvoryhák et Berndt)

AniLab : Site francophone de diffusion par mail entre personnes travaillant avec des animaux de laboratoire (<http://www.afstal.com/ans-et-resources/forums-de-discussion/>)

Ames, M., Antkowiak, P., Nettich, A., Speer, D., & Rölcke, T. (2011). Optimization of intraperitoneal isoflurane anesthesia in mice: drug, dosage, adverse effects, and anesthesia depth. *Comparative Medicine*, 52(5), 433-436.

Hedqvist, P. (2009). Laboratory Animal Anesthesia. *Third Edition* (3rd ed., p. 806). Academic Press.

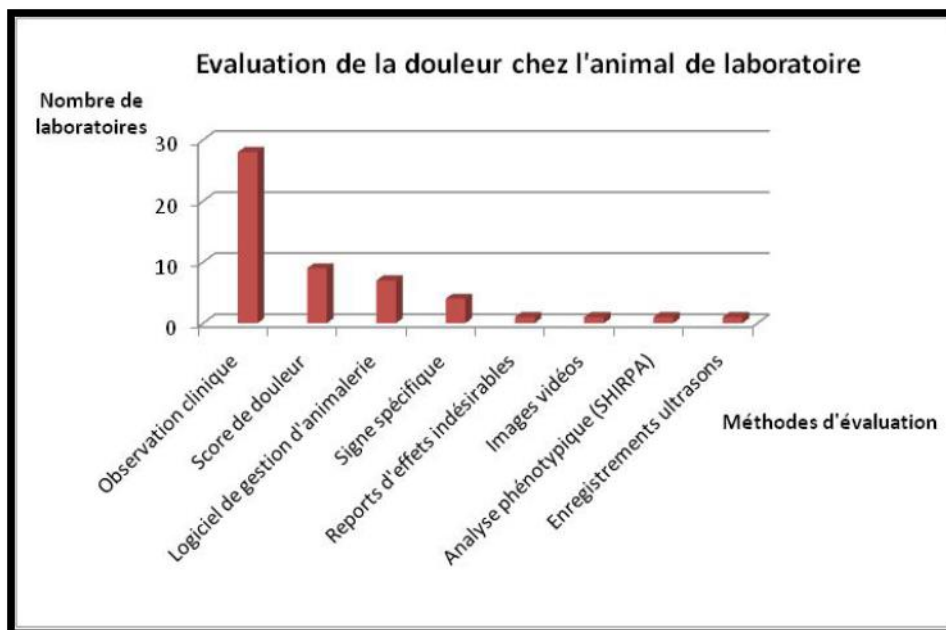
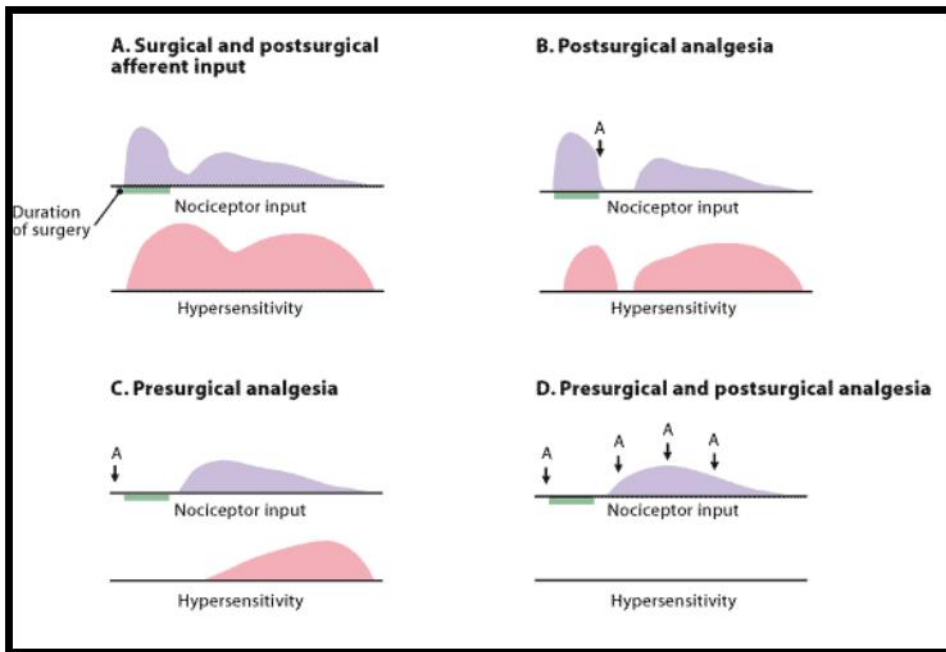
Frank, S. (2002). Consequences of hypothermia. *Current Anesthesia and Critical Care*, 7(2), 79-86. doi:10.1054/acc.2001.0340

Stokes, S. L., Hedqvist, P. A., & Richardson, C. A. (2009). Reported analgesic and anesthetic administration to rodents undergoing experimental surgical procedures. *Laboratory Animals*, 44(2), 149-154. doi:10.1177/0020717908320020

AFSTAL, Marseille Juin 2012



## 8 Annexe 8 : Evaluation et prévention de la douleur (Junot, 2012)



**Proposed Method to Quantify Pain, Distress and Suffering**  
(Morton & Griffiths, Vet. Record. 116:431-436, 1985)

Variable

**Body Weight Changes**

- 0 = Normal
- 1 = <10% loss
- 2 = 10-15% loss
- 3 = >20% loss

**Physical Appearance**

- 0 = Normal
- 1 = Lack of Grooming
- 2 = Rough coat, nasooocular discharge
- 3 = Very rough coat, abnormal posture, enlarged pupils

**Measurable Clinical Signs**

- 0 = Normal
- 1 = Small changes of potential significance
- 2 = Temp change of 1-2 C. Cardiac & respiratory rates increased up to 30%
- 3 = Temp change >2 C. Cardiac & respiratory rates increased up to 50% or greatly decreased

**Unprovoked behavior**

- 0 = Normal
- 1 = Minor changes
- 2 = Abnormal, reduced mobility, decreased alertness, inactive
- 3 = Unsolicited vocalizations, self mutilation, either very restless or immobile

**Behavioral Responses to External Stimuli**

- 0 = Normal
- 1 = Minor depression/exaggeration of response
- 2 = Moderately abnormal responses
- 3 = Violent reactions or comatose

---

If "3" is given more than once, change all "3" into "4". Sum the scores from all variables.

- 0-4 = Normal
- 5-9 = Mild pain/distress
- 10-14 = Moderate pain/distress
- 15-20 = Severe pain/distress

## 9 Annexe 9 : Proposition de tableau synthétique, Quel anesthésique pour quel geste ?

Protocole	Doses (mg/kg)	Voie	Indications	Inconvénients	Avantages
Pentobarbital	50	IP	<b>Euthanasie</b>	Pas stade chirurgical	
				Pas analgésie	
Kétamine/Xylazine	100/5 ou 75/10	IP	Chirurgie	dépresseur respiratoire ++	
				Long réveil	
Kétamine/Médétomidine	100/1	IP	Chirurgie	Dépresseur cardio-respi	Sécurité
				Prélèvements	Stade chirurgical <b>prolongé</b>
Kétamine/Médétomidine	100/1	IP	Chirurgie	Dépresseur cardio-respi	Stade chirurgical <b>court</b>
				Prélèvements	Réversible ++
Atipamezole 1mg/kg SC					
Isoflurane	4% Induction 2% Entretien	Volatile	<b>Courte ET longue durée</b>	Dépression respiratoire (compensée par O2)	Peu interférences
				Matériel/anesthésique	Induction/réveil rapides
				Récupération gaz	Gestion profondeur

## 10 Annexe 10 : TP d'anesthésie sans animaux vivants : Exemple d'exploitation de données par protocole ou par paramètres

### PROTOCOLE ISOFLURANE

#### Induction :

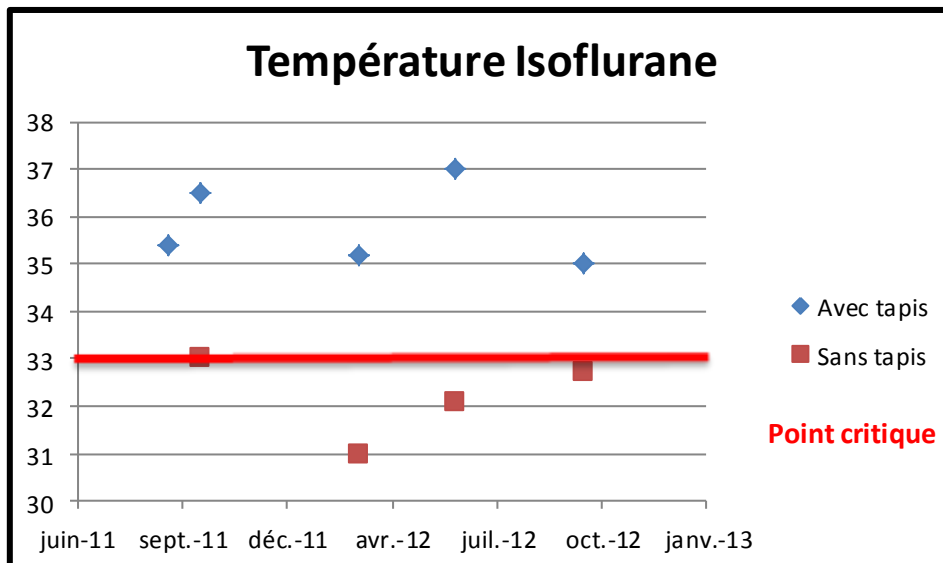
- Cage à induction : 4%
- Entretien : 2%

#### Analgesie :

- Meloxicam

Sur une dizaine de séances de TP :

#### Température



#### Profondeur

	Reflexes		
	(+)	(-)	(+/-)
<b>Avec tapis</b>	1	6	0
<b>Sans tapis</b>	1	7	0

	mai-11	sept-11	oct-11	mars-12	juin-12	oct-12
<b>T2</b>	ND	1'	3,2'	<1'	4,4'	1'

## ETUDE DE LA PROFONDEUR

<b>Reflexes Pento</b>			
	(+)	(-)	(+/-)
<b>avec tapis</b>	5		
<b>sans tapis</b>	5		1

<b>Reflexes Iso</b>			
	(+)	(-)	(+/-)
<b>avec tapis</b>	1	6	0
<b>sans tapis</b>	1	7	0

<b>Reflexes K/M</b>			
	(+)	(-)	(+/-)
<b>avec tapis</b>	1	5	1
<b>sans tapis</b>		7	1

<b>Reflexes K/X</b>			
	(+)	(-)	(+/-)
<b>avec tapis</b>	4	5	3
<b>sans tapis</b>	2	9	4

	mai-11	sept-11	oct-11	mars-12	juin-12	oct-12
<b>T2 K/X</b>	ND	5'10	4'33	7'	5'11	8'5

	mai-11	sept-11	oct-11	mars-12	juin-12	oct-12
<b>T2 Iso</b>	ND	1'	3,2'	<1'	4,4'	1'

	mai-11	sept-11	oct-11	mars-12	juin-12	oct-12
<b>T2 Pento</b>	non	non	non	non	non	non

	mai-11	sept-11	oct-11	mars-12	juin-12	oct-12
<b>T2 K/M</b>	4'2	2'40	3'33	5'30	4'6	5'

**NOM PRENOM : TRONCHE MELOE**

**TITRE : MISE EN PLACE DE TRAVAUX PRATIQUES AFIN D'ENSEIGNER UNE ANESTHESIE ADAPTEE DANS LES FORMATIONS A L'UTILISATION DES ANIMAUX A DES FINS SCIENTIFIQUES : EXEMPLE DES RONGEURS**

Thèse d'Etat de Doctorat Vétérinaire : Lyon, 25 Octobre 2013

**RESUME :**

Dans un contexte actuel de souci du bien-être animal, la réglementation européenne sur l'expérimentation animale impose la prise en charge de la douleur, de l'anesthésie, ainsi que de la compétence de son personnel. Les expérimentateurs doivent donc recevoir des formations initiales, spécifiques et continues afin de pouvoir maîtriser l'anesthésie-analgésie en respectant les caractéristiques propres des rongeurs. Il apparaissait donc intéressant de réaliser un état des lieux sur les pratiques d'anesthésie actuelle et de les comparer avec les recommandations. Les protocoles tels que l'isoflurane et Kétamine-Xylazine sont largement mis en avant ; cela nous a alors permis de fixer des objectifs pour la mise en place de travaux pratiques au sein de la formation niveau 1. Ce travail illustre donc une démarche de réflexion et représente un support dans la mise en place d'une formation visant à optimiser l'anesthésie des rongeurs de laboratoire tout en suivant les différentes évolutions du domaine de l'expérimentation animale.

**MOTS CLES :**

- Anesthésie
- Animaux de laboratoire
- Homéostasie
- Souris

**JURY :**

Président :	Monsieur le Professeur Claude GHARIB
1er Assesseur :	Madame le Professeur Delphine GREZEL
2ème Assesseur :	Monsieur le Professeur Stéphane JUNOT

**DATE DE SOUTENANCE :** 25 Octobre 2013

**ADRESSE DE L'AUTEUR :** 6, avenue de la gare  
24460 Négrondes