VETAGRO SUP
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON

Année 2019 – Thèse n°109

COMPARAISON DE L'ALFAXALONE A L'ASSOCIATION MEDETOMIDINE-KETAMINE POUR L'INDUCTION DE L'ANESTHESIE SOUS ISOFLURANE CHEZ LA TORTUE DE FLORIDE (TRACHEMYS SCRIPTA SP.) OPEREE D'OVARIECTOMIE

THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 6 décembre 2019
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

Laurène GANTNER

VetAgro Sup

UNIVERSITÉ DE LYON

VETAGRO SUP
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON

Année 2019 – Thèse n°109

COMPARAISON DE L'ALFAXALONE A L'ASSOCIATION MEDETOMIDINE-KETAMINE POUR L'INDUCTION DE L'ANESTHESIE SOUS ISOFLURANE CHEZ LA TORTUE DE FLORIDE (TRACHEMYS SCRIPTA SP.) OPEREE D'OVARIECTOMIE

THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 6 décembre 2019
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

Laurène GANTNER

VetAgro Sup

UNIVERSITÉ DE LYON

Liste des Enseignants du Campus Vétérinaire de Lyon *(01-09-2019)*

ABITBOL	Marie	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
ALVES-DE-OLIVEIRA	Laurent	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
ARCANGIOLI	Marie-Anne	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
AYRAL	Florence	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
BECKER	Claire	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
BELLUCO	Sara	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
BENAMOU-SMITH	Agnès	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
BENOIT	Etienne	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
BERNY	Philippe	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
BONNET-GARIN	Jeanne-Marie	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
BOULOCHER	Caroline	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
BOURDOISEAU	Gilles	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
BOURGOIN	Gilles	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
BRUYERE	Pierre	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
BUFF	Samuel	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
BURONFOSSE	Thierry	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
CACHON	Thibaut	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
CADORÉ	Jean-Luc	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
CALLAIT-CARDINAL	Marie-Pierre	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
CAROZZO	Claude	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
CHABANNE	Luc	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
CHALVET-MONFRAY	Karine	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
DE BOYER DES ROCHES	Alice	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
DELIGNETTE-MULLER	Marie-Laure	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
DJELOUADJI	Zorée	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
ESCRIOU	Catherine	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
FRIKHA	Mohamed-Ridha	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
GALIA	Wessam	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
GILOT-FROMONT	Emmanuelle	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
GONTHIER	Alain	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
GRANCHER	Denis	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
GREZEL	Delphine	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
HUGONNARD	Marine	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
JANKOWIAK	Bernard	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
JOSSON-SCHRAMME	Anne	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
JUNOT	Stéphane	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
KODJO	Angeli	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
KRAFFT	Emilie	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
LAABERKI	Maria-Halima	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
LAMBERT	Véronique	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
LE GRAND	Dominique	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
LEBLOND	Agnès	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
LEDOUX	Dorothée	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
LEFEBVRE	Sébastien	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
LEFRANC-POHL	Anne-Cécile	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
LEGROS	Vincent	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
LEPAGE	Olivier	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
LOUZIER	Vanessa	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
MARCHAL	Thierry	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
MOISSONNIER	Pierre	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
MOUNIER	Luc	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
PEPIN	Michel	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
PIN	Didier	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
PONCE	Frédérique	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
PORTIER	Karine	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
POUZOT-NEVORET	Céline	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
PROUILLAC	Caroline	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
REMY	Denise	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
RENE MARTELLET	Magalie	DEPT-ELEVAGE-SPV	Maître de conférences
ROGER	Thierry	DEPT-BASIC-SCIENCES	Professeur
SABATIER	Philippe	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
SAWAYA	Serge	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
SCHRAMME	Michael	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
SERGENTET	Delphine	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur
THIEBAULT	Jean-Jacques	DEPT-BASIC-SCIENCES	Maître de conférences
THOMAS-CANCIAN	Aurélie	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
TORTEREAU	Antonin	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
VIGUIER	Eric	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Professeur
VIRIEUX-WATRELOT	Dorothée	DEPT-AC-LOISIR-SPORT	Maître de conférences
ZENNER	Lionel	DEPT-ELEVAGE-SPV	Professeur

REMERCIEMENTS JURY

A Monsieur le Professeur Vincent Piriou,
De la faculté de médecine de Lyon,
Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence du jury de cette thèse,
Mes hommages respectueux.

A Madame le Professeur Karine Portier,
De Vetagro Sup, campus vétérinaire de Lyon,
Pour son encadrement, sa disponibilité et son soutien durant toute cette thèse,
Et pour m'avoir fait l'honneur d'être mon premier assesseur,
Sincères remerciements.

A Madame le Docteur Magalie Rene-Martellet
De Vetagro Sup, campus vétérinaire de Lyon,
Pour m'avoir fait l'honneur de juger ce travail et de participer au jury de cette thèse,
Sincères remerciements.

***

A Monsieur le Docteur Benoît Quintard,
Directeur adjoint et vétérinaire au parc zoologique et botanique de Mulhouse,
Pour m'avoir proposé ce sujet de thèse, pour avoir été là du début à la fin de sa réalisation,
Pour avoir cru en moi et m'avoir soutenue,
Mes remerciements les plus sincères.

TABLE DES MATIERES

TABLE DES ANNEXES 13

TABLE DES FIGURES 15

TABLE DES TABLEAUX 17

LISTE DES ABREVIATIONS 19

INTRODUCTION 21

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE 23

I- L'anesthésie doit être adaptée aux particularités physiologiques des tortues 23

a- Des animaux ectothermes 23

b- Des animaux qui passent l'hiver en dormance 24

c- Des animaux possédant un système porte-rénal 28

II- L'anesthésie doit prendre en compte les spécificités anatomiques des tortues 33

a- Système respiratoire 33

b- Système cardio-vasculaire 35

c- Présence d'une carapace 39

III- Les tortues présentent une pharmacocinétique singulière : bilan des molécules anesthésiques et analgésiques utilisées (résumé disponible en annexe 1 et 2) 43

a- Pour la prémédication 43

i. Anticholinergiques 43

ii. Les phénothiazines 44

iii. Les benzodiazépines 44

iv. Les agonistes alpha2-adrénergiques : 45

v. Les opioïdes 46

b- Les anesthésiques injectables : l'induction. 47

i. Les anesthésiques dissociatifs 47

ii. Les alkylphénols 48

iii. Les neurostéroïdes 49

c- La maintenance par anesthésiques halogénés 50

d- L'analgésie (résumé en annexe 2) 51

i. Les opioïdes 51

ii. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) 53

iii. Anesthésiques locaux utilisés pour l'analgésie 54

CONCLUSION – PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE 56

PARTIE EXPERIMENTALE 57

I- Présentation de l'étude. 57

a- Choix des protocoles étudiés 57

b- Objectif de l'étude et hypothèses sur les résultats 58

c- Conditions de déroulement de l'étude 60
II- Matériel et méthodes 61
a- Les animaux 61
i. Critères d'inclusion dans l'étude 61
ii. Examen clinique et examens complémentaires 62
iii. Critères d'exclusion de l'étude. 64
iv. Répartition dans les groupes 65
b- Evaluation de la douleur et de la profondeur de l'anesthésie : grilles de scores. 66
i. Evaluation de la profondeur d'anesthésie et établissement d'un score. 66
ii. Le score de nociception. 68
c- Protocole expérimental – Study design (figure 15). 71
i. Temps préopératoire et prémédication 71
ii. Induction – Temps opératoire et entretien de l'anesthésie 71
iii. Monitoring et surveillance per-opératoire 74
iv. Surveillance post-opératoire 76
d- Statistiques 77
i. Temps caractéristiques 77
ii. Fréquence cardiaque 78
iii. Scores d'anesthésie et d'analgésie 78
III- Résultats 79
a- Les tortues incluses dans l'étude 79
b- Etude des temps caractéristiques de l'anesthésie 80
i. Description des résultats 80
ii. Efficacité de l'induction 81
iii. Récupération post-chirurgicale 82
c- Paramètres per-opératoires 83
i. Profondeur d'anesthésie 83
ii. Score de nociception 84
iii. Fréquence cardiaque 85
d- Observations post-opératoires et mortalité 86
IV- Discussion 87
a- Interprétation des résultats et limites rencontrées 87
i. Induction 87
ii. Paramètres per-opératoire 88
iii. Récupération post chirurgicale 88
b- Critique des protocoles 89
iv. La prémédication 89
v. L'induction et la maintenance de l'anesthésie 90
vi. Soins post-opératoires 91
c- Pertinence des scores établis 91
CONCLUSION 93

BIBLIOGRAPHIE 95

ANNEXES 103

TABLE DES ANNEXES

Annexe 1 : Exemples de protocoles de sédation et d'anesthésie 103

Annexe 2 : Molécules utilisées pour l'analgésie des tortues de Floride. 104

Annexe 3 : Feuille d'examen clinique et d'inclusion dans l'étude. 105

Annexe 4: Feuille de suivi de l'anesthésie et des temps caractéristiques. 106

Annexe 5: Tableau excel exploitable sous Rstudio - exemple avec les temps caractéristiques. 107

Annexe 6 : Script R pour obtenir les résultats de la comparaison entre les protocoles pour Tmr. 108

Annexe 7: Données de la console R,exemple du résultat pour Tmr : le temps de relaxation musculaire est 4,5 fois plus grand avec le protocole MK qu'avec l'alfaxalone. 108

Annexe 8: Protocole de réanimation en cas d'incident anesthésique ou de complications lors du réveil d'anesthésie. 108

Annexe 9 : Technique d'ovariectomie des tortues de Floride utilisée dans l'étude et complications chirurgicales pouvant y être associées ……109

TABLE DES FIGURES

Figure 1: Tortue de Floride dans le milieu naturel. Photo ©Dalibor Brlek Photography. 21

Figure 2: Tortues de Florides sur un poste d'insolation, dans le Var. Photo ©Laurène Gantner 23

Figure 3: Titrage de l'agglutination antigène-anticorps en fonction de la saison chez des tortues peintes (Chrysemys picta). D'après Schwanz L. et al (18). 26

Figure 4: Anatomie du système porte-rénal en vue dorso-ventrale, d'après Holz et al. (20) ... 28

Figure 5: Anatomie du système-porte rénal en vue latérale, d'après Holz et al.(20) 29

Figure 6: Anatomie du tractus respiratoire inférieur d'une tortue aquatique (Chelydra serpentina), d'après Schachner et al.(25) 33

Figure 7: Vue ventro-dorsale de l'appareil respiratoire supérieur d'une Trachémyde et mesure de la trachée. Photo© Laurène Gantner 34

Figure 8: Anatomie cardiaque des reptiles non crocodiliens d'après « Heart Anatomy on Different Vertebrates » (26) 36

Figure 9 : Débit sanguin systémique (SF) et pulmonaire (PF) chez cinq tortues charbonnières (Chelonoidis carbonaria) durant une anesthésie gazeuse à l'isoflurane, après injection de solution saline (NaCl 0,9%) ou d'atropine (1mg/kg). D'après GREUNZ E.M. et al.(27). 37

Figure 10: Voie d'abord préfémorale chez une tortue de Floride (Trachemys scripta elegans). Photo ©Noémie Guillevic 39

Figure 11: Stérilisation d'une tortue de Floride par voie inguinale. Retrait de la grappe ovarienne par une ouverture d'environ 2,5cm de long. ©Laurène Gantner 41

Figure 12: Cystoscopie d'une tortue de Floride femelle. A gauche, on observe une grappe ovarienne (flèche bleue), qui permet de confirmer qu'il s'agit d'un individu femelle, et un œuf calcifié (flèche rouge) attestant d'une dystocie. ©Laurène Gantner 64

Figure 13 : Exemples d'individus exclus de l'étude. ©Laurène Gantner 64

Figure 14: Système d'identification des individus par application de vernis sur les écailles. Schéma : Laurène Gantner. 65

Figure 15: Study design – déroulement chronologique de l'étude expérimentale. 71

Figure 16: Injection intramusculaire d'une molécule anesthésique dans le membre antérieur gauche d'une Trachémyde. ©Laurène Gantner 72

Figure 17: Injection de bupivacaïne en SC. dans la fosse préfémorale droite d'une tortue de Floride. ©Laurène Gantner 72

Figure 18: Intubation d'une tortue de Floride avec un cathéter 14G. ©Laurène Gantner..... 73

Figure 19: Tortue de Floride sous anesthésie gazeuse, avec monitoring. ©Benoît Quintard .. 74

Figure 20: Diagramme quantile-quantile, transformation logarithmique des temps, approximation d'une loi normale, exemple avec le temps de relaxation musculaire T_{MR}. Source : Laurène Gantner..... 77

Figure 21 : Poids en kg des tortues en fonction du protocole. Répartition semblable entre les deux groupes. Source : Laurène Gantner, Rstudio. 79

Figure 22: Diagrammes en boîte des temps caractéristiques de l'induction de l'anesthésie après transformation logarithmique pour deux groupes de tortues de Floride induite avec de l'alfaxalone (n=20) ou l'association médétomidine-kétamine (n=23). *différence significative. Source : Laurène Gantner, Rstudio. 81

Figure 23: Diagramme en boîte du logarithme du temps de réapparition du tonus musculaire chez deux groupes de tortues de Floride anesthésiées avec deux protocoles différents. Source : Laurène Gantner, Rstudio. 82

Figure 24: Diagramme en boîte du logarithme du temps d'extubation T_{ext} chez deux groupes de tortues de Floride anesthésiées avec deux protocoles différents. Source : Laurène Gantner, Rstudio..... 82

Figure 25 : Score de profondeur d'anesthésie en fonction du temps chez deux groupes de tortues de Floride, anesthésiées avec de l'alfaxalone (A, n=20) ou l'association médétomidine-kétamine (MK, n=23). Chaque courbe de couleur représente un individu distinct. Source : Laurène Gantner, Rstudio. 83

Figure 26: Score de nociception en fonction du temps chez deux groupes de tortues de Floride, anesthésiées avec de l'alfaxalone (A, n=20) ou l'association médétomidine-kétamine (MK, n=23). Source : Laurène Gantner, Rstudio. 84

Figure 27: Fréquences cardiaques au cours du temps chez deux groupes de tortues de Floride, anesthésiées avec de l'alfaxalone (A, n=20) ou l'association médétomidine-kétamine (MK, n=23). Chaque courbe de couleur correspond à un individu distinct. Source : Laurène Gantner, Rstudio. 85

Figure 28: Ligature en masse de la grappe ovarienne gauche chez une tortue de Floride. ©LaurèneGantner..... 109

Figure 29 : plaie d'ovariectomie après fermeture par surjet simple. ©Laurène Gantner 110

TABLE DES TABLEAUX

Tableau I: Description des deux protocoles comparés dans l'étude expérimentale. 58

Tableau II: Médianes+/- écart-type des temps caractéristiques de l'anesthésie (en minutes) en fonction du protocole d'induction de l'anesthésie administré à des tortues de Florides. * Différence significative entre les deux protocoles (p<0.05). 80

Tableau III: Variances des temps caractéristiques selon le protocole d'anesthésie utilisé pour la stérilisation de deux groupes de tortues de Floride : alfaxalone (A) ou médétomidine-kétamine (MK). 80

LISTE DES ABREVIATIONS

A : Alfaxalone

AINS : Anti-inflammatoires non stéroïdiens

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

ATP : Adénosine triphosphate

bpm : battements par minutes

CAM : Concentration Alvéolaire Minimale

COX-1 ou COX-2 : Cyclooxygénases (1 ou 2)

ECG : Electrocardiogramme

EEE : Liste Européenne des espèces envahissantes

g : Grammes

h : Heures

IM : Intramusculaire

IV : Intraveineux

kg : Kilogramme

L-R : “left to right” ; qualifie le sens du shunt cardiaque

mg/kg : Milligramme(s) par kilogramme(s)

MK : Médétomidine-Kétamine

NAC : Nouveaux Animaux de Compagnie

NMDA : Nom des récepteurs activés par l’agoniste N-méthyl-D-aspartate

O_2 : Dioxygène

PCO_2 : Pression partielle de gaz carbonique

R-L : “right to left” ; qualifie le sens du shunt cardiaque

SC : Sous-cutané(e)

Spo_2 : Saturation pulsée en oxygène (proche de la saturation artérielle en oxygène)

SPR : Système porte-rénal

T° : Température en degré Celsius

VS : Versus

°C : Degrés Celsius

µg/kg : Microgramme(s) par kilogramme(s)

INTRODUCTION

La Trachémyde à tempes rouges, *Trachemys scripta elegans*, plus connue sous le nom de Tortue de Floride a été importée en France dans les années 1970. Sa vente connut un succès florissant à la fin du XXème siècle. Plus de quatre millions de tortues de Floride ont été achetées en animalerie entre 1986 et 1994 (1). Vendues alors qu'elles ne mesuraient que quelques centimètres, beaucoup ont été relâchées dans le milieu naturel en grande partie car les propriétaires ne s'attendaient pas à ce qu'elles puissent atteindre une trentaine de centimètres. La tortue de Floride s'est maintenue et reproduite dans le milieu naturel (Figure 1), s'installant durablement sur le territoire français (2). Elle se retrouve en compétition avec les tortues d'eau autochtones, la cistude d'Europe (3) et l'Emyde lépreuse, notamment pour les postes d'insolations (4). Elle interfère également avec les populations autochtones eu égard à son parasitisme qui est différent et qui pourrait les affecter (5). Les tortues de Floride ont un impact direct sur l'écosystème des lieux qu'elles envahissent en menaçant également d'autres espèces animales vivant dans les zones humides (amphibiens et insectes).

Figure 1: Tortue de Floride dans le milieu naturel. ©Dalibor Brlek Photography.

La tortue de Floride est désormais inscrite dans la liste européenne des espèces exotiques envahissantes (EEE) et fait l'objet d'une réglementation stricte (6). En effet, la vente et la détention de la Trachémyde à tempes rouges ont été interdites sans Certificat de Capacité (7). De nombreux centres ont été ouverts afin de recueillir les tortues dont les propriétaires souhaitent se défaire, et des campagnes de prélèvement dans la nature et d'euthanasies ont également été organisées afin de diminuer l'impact négatif de cette espèce invasive sur l'écosystème (8). Après les avoir recueillies et pour éviter une explosion démographique au sein des centres d'accueil de ces tortues abandonnées, les femelles sont parfois stérilisées. C'est le cas systématiquement au parc zoologique de Mulhouse, où les tortues sont ensuite relâchées dans un étang clôturé au sein du parc.

On rencontre de plus en plus de tortues aquatiques d'eau douce dans les cabinets vétérinaires pour des motifs de consultation nécessitant une prise en charge chirurgicale tels que des abcès, des plaies, des otites, des dystocies, etc... Actuellement, les tortues sont souvent opérées sans aucune anesthésie (amputation de membre, énucléation) puisque celle-ci reste hasardeuse et que ces animaux expriment peu leur douleur et sont robustes. Il a pourtant été prouvé depuis plusieurs années que les chéloniens sont sujets à la nociception et que celle-ci peut être réduite par l'utilisation de molécules analgésiques (9). La stérilisation des tortues de Floride devrait être un acte accessible à de nombreux praticiens sans qu'ils ne craignent des complications liées à l'anesthésie.

Le but de cette étude est de comparer deux protocoles d'anesthésie lors de la stérilisation de la tortue de Floride, afin de déterminer lequel est le plus efficace pour avoir à la fois une induction rapide, une anesthésie et une analgésie assez profondes pour réaliser un acte chirurgical et une bonne récupération. La documentation à ce sujet est assez pauvre et les molécules choisies sont des molécules sans AMM pour les tortues de Floride mais indiquées dans l'anesthésie d'autres espèces ; néanmoins, des études ont été menées sur leur utilisation chez les chéloniens. Nous souhaitons comparer deux protocoles avec des molécules différentes pour l'induction de l'anesthésie (sédation, analgésie et maintenance identiques). Le choix des molécules est basé sur l'efficacité et la preuve de leur effet lors d'études préalables (recherche bibliographique). Pour être accessibles au plus grand nombre de vétérinaires, les protocoles choisis comportent des molécules injectables par voie SC et IM car les injections par voie intra-veineuses sont délicates chez les chéloniens.

Une bonne prise en charge de la douleur est à prendre en compte pour que ces stérilisations se fassent dans le respect du bien-être animal, et permettent une récupération rapide.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I- L'anesthésie doit être adaptée aux particularités physiologiques des tortues

a- Des animaux ectothermes

Les chéloniens sont des animaux ectothermes, dont la température centrale varie en fonction de la température du milieu extérieur. Contrairement aux homéothermes, les animaux ectothermes vont chercher à maintenir leur température corporelle à l'aide de sources de chaleur dans leur milieu de vie. Ces sources environnementales peuvent avoir deux origines différentes : le soleil, on parle alors de source héliothermique, ou des surfaces chaudes, qui vont transmettre leur chaleur par conduction, et il s'agira alors d'une source de chaleur dite « thigmothermique ».

A chaque espèce de tortue correspond un intervalle de température optimal, ou « zone de température préférentielle corporelle », pour lequel leur activité est maximale. Cet intervalle est compris entre 22 et 30 degrés Celsius pour les tortues de Floride (10). La régulation de leur température centrale se fait principalement grâce à des variations de la quantité de chaleur absorbée : la tortue va chercher à se maintenir dans sa zone de température préférentielle en utilisant les deux sources de chaleur environnementales à sa disposition : hélio et thigmothermique. En France, les tortues de Floride monopolisent les « postes de basking », au détriment des espèces locales comme la cistude d'Europe (figure 2).

Figure 2: Tortues de Florides sur un poste d'insolation, dans le Var. Photo© Laurène Gantner

Le métabolisme et les performances des reptiles sont étroitement liés à la température. A chaque fonction physiologique va être associée une température optimale, pour laquelle l'organe concerné fonctionnera de façon plus performante. Cette température est différente pour chaque fonction de l'animal, mais généralement comprise dans l'intervalle de température préférentielle corporelle de l'animal.

Chez les chéloniens, la température va ainsi affecter le métabolisme basal, la digestion, la fonction cardiovasculaire, la reproduction, l'immunité, l'activité de l'animal (prise de nourriture, locomotion), la régulation acido-basique et les échanges d'eau avec le milieu extérieur (11). La température va également avoir un impact sur la récupération post-chirurgicale puisque la cicatrisation – en particulier la migration des cellules épithéliales - est plus rapide lorsque l'animal se trouve dans sa zone de températures préférentielles.

Les tortues de Floride sont très dépendantes de leur milieu de vie et notamment des saisons. Ainsi, en hiver, quand la température diminue sous le seuil de 5°C pendant plusieurs jours, leur métabolisme ralentit à tel point qu'elles entrent en hibernation.

Ce lien direct entre la température centrale des tortues et leurs fonctions physiologiques va avoir des conséquences importantes lors de l'anesthésie des tortues. La solubilité des molécules dans leur sang va varier avec leur température corporelle, la distribution et la transformation des molécules vont dépendre du métabolisme basal.

Résumé

La température corporelle des chéloniens influe sur leur métabolisme, et est étroitement liée à leur environnement.

La température est un critère majeur à inclure dans un protocole d'anesthésie chez la tortue. Il faudra au préalable acclimater cette dernière à cette température – en générale la température préférée corporelle - en amont de l'anesthésie, afin que sa température interne soit identique à la température ambiante à laquelle sera effectuée la procédure.

Ceci permettra d'optimiser le métabolisme des molécules anesthésiques ainsi que la récupération post-chirurgicale.

L'intervalle de température préférentielle corporelle des tortues de Floride est compris entre 22°C et 30°C.

Une autre particularité physiologique liée à la température extérieure va modifier de façon importante le métabolisme des tortues : l'hibernation.

b- Des animaux qui passent l'hiver en dormance

La plupart des tortues d'eau douce peut survivre à nos climats tempérés, et supporter des températures basses en hiver. On ne trouve cependant pas de tortues en delà de 50° de latitude nord. Leur survie durant l'hiver tient à leur capacité à vivre dans un état de « vigilance ralentie », avec une baisse de leur activité et de leur métabolisme extrêmement important. Les tortues aquatiques passent une partie de l'hiver au fond d'étangs parfois même gelés en surface, enfouies dans la boue. Certaines espèces, comme la *Kinosternon subrubrum,* hivernent en s'enterrant à proximité des étangs (12).

Parler d'hibernation pour les chéloniens est une simplification que nous utiliserons dans le sens « d'état de dormance durant l'hiver ». Ce terme est à prendre au sens large dans la mesure où les tortues d'eau ne plongent pas dans un réel coma malgré la baisse de leur métabolisme allant jusqu'à 99%. En effet, même au plus froid de l'hiver, elles sont capables de mouvements, et il peut leur arriver de se déplacer au fond de l'eau, ou de remonter chercher de l'air à la surface si celle-ci n'est pas gelée (13). Il a été montré expérimentalement que des Trachémydes à tempes rouges placées dans une eau froide et anoxique pendant plusieurs semaines réagissaient (électrodes mesurant l'activité électrique du cerveau) à des variations de lumière et de température, ce qui montre bien un état de vigilance ralentie en attendant que reviennent les beaux jours (14).

Les tortues ne se nourrissent pas durant l'hiver et entrent généralement dans cet état de dormance avec l'estomac vide. Elles recommencent à se nourrir lorsque la température de l'eau dépasse à nouveau 15°C. En plus du jeûne, les tortues vont vivre dans une eau parfois très pauvre en dioxygène pendant plusieurs mois. De nombreuses espèces de tortues aquatiques ont développé des réponses adaptatives pour faire face à ces conditions extrêmes (15). D'une part les tortues vont voir leur métabolisme et leur rythme cardiaque diminuer de plus de 99% pour certaines espèces, diminuant ainsi la consommation d'ATP et la production d'acide lactique.

La dormance hivernale va se faire en trois phases remarquables d'un point de vue métabolique : l'entrée en anoxie, la phase de maintenance ou hypométabolisme, et la phase de récupération induite par la réoxygénation (16).

L'entrée en anoxie se fait en quelques heures. La réponse cérébrale des tortues face à l'anoxie va être une diminution importante de la demande en ATP, de telle sorte que la glycolyse anaérobie suffise à combler les besoins énergétiques. La consommation énergétique diminue de 70 à 80% durant cette phase. Durant la première heure d'anoxie, les tortues font face à une « crise énergétique » avec un déficit de production par rapport à la demande. Cette chute d'ATP disponible va avoir pour conséquence la diminution du métabolisme de la tortue.

La phase de maintenance en hypométabolisme commence dans les heures qui suivent l'entrée en anoxie. La crise énergétique est résolue, avec un niveau d'ATP désormais stable et maintenu grâce au métabolisme anaérobie. Les tortues n'entrent pas dans un coma profond, au contraire. Pendant cette phase, l'intégrité et le fonctionnement du réseau neuronal sont maintenus, ainsi la tortue reste dans un état d'alerte suffisant pour détecter la fin de l'hiver ou les redoux.

La sortie de la dormance se fait rapidement grâce à la réoxygénation. Paradoxalement, la tortue doit se réveiller et commencer à augmenter son métabolisme avant de pouvoir trouver de l'oxygène, elle doit d'abord nager et atteindre la surface. La quantité de dioxygène disponible n'est pas le seul paramètre intervenant dans le « réveil » : la photopériode et la température du milieu extérieur vont jouer un rôle prépondérant. La SpO_2 est à nouveau dans les normes 10 minutes après le retour à l'air libre de la tortue. Tous les processus métaboliques alors diminués reprennent de façon coordonnée leur activité normale.

Il est à noter que certaines espèces supportent mieux l'anoxie que d'autres. En effet, l'espèce *Graptemys geographica* ne survivra pas à des conditions trop extrêmes et va hiberner dans des eaux riches en dioxygène, comme celle des rivières ou de grands lacs, ce qui explique sa répartition géographique. Les tortues de Floride (*Trachemys scripta spp*) et la tortue peinte (*Chrysemys picta*) quant à elles, font partie des espèces pouvant vivre le plus longtemps en milieu anoxique, jusqu'à plusieurs mois (17).

Le stress de l'hibernation et le changement brusque de température vont entraîner une dépression immunitaire chez les reptiles durant la période hivernale. Cette baisse d'immunité sera encore présente au printemps, moment où les tortues, après des mois de jeûne et de dormance, vont dépenser leur nouvelle énergie pour la reproduction de leur espèce plutôt que pour restaurer leur immunité. Ce phénomène a été mis en évidence chez de nombreuses espèces en dosant les différents acteurs de l'immunité (cellules sanguines, anticorps, etc). Chez la tortue peinte, cette baisse d'immunité a également été prouvée, en dosant les anticorps naturels grâce à une réaction d'agglutination en présence d'un antigène (figure 3 , hématies provenant d'une autre espèce, le mouton) (18).

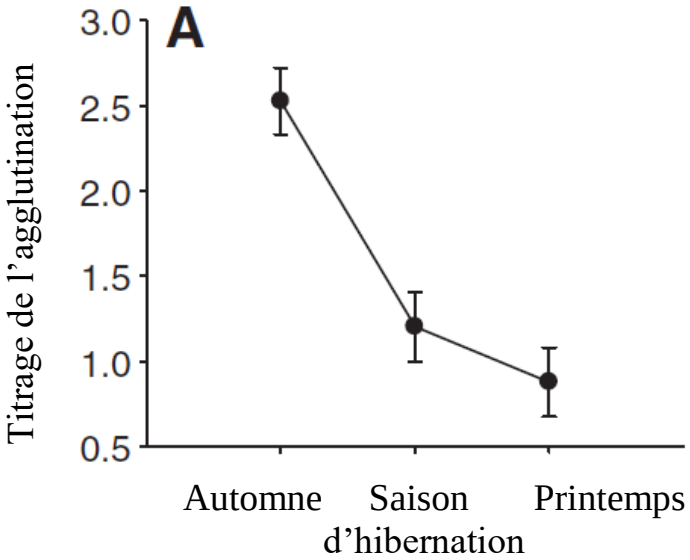

Figure 3: Titrage de l'agglutination antigène-anticorps en fonction de la saison chez des tortues peintes (Chrysemys picta). D'après SCHWANZ L. et al (18).

Les périodes d'hiver, de printemps, et d'automne (juste avant une baisse importante d'immunité) ne sont donc pas propices pour effectuer des actes chirurgicaux invasifs sur des reptiles. D'une part, le stress de la manipulation provoquerait une acidose métabolique qui pourrait s'ajouter à celle éventuellement présente en sortie d'hibernation. D'autre part, ce stress engendrerait une baisse d'immunité à une période où celle-ci est déjà basse. Les tortues sont particulièrement sensibles et vulnérables durant ces saisons. La récupération post-chirurgicale serait fortement détériorée, tout comme la cicatrisation, et les risques de complications seraient amplifiés. La période estivale est plus propice pour effectuer des interventions sur les chéloniens puisque leur métabolisme fonctionne alors de façon optimale (température préférentielle corporelle plus facile à atteindre grâce au basking) et leur immunité plus est élevée à cette saison.

Résumé

L'hiver, avec la baisse des températures, les tortues entrent en dormance :

Entrée en anoxie - Phase de maintenance en hypométabolisme pouvant durer plusieurs mois chez les tortues de Floride - Réoxygénation et sortie de dormance.

Les tortues de Floride supportent l'état d'anoxie sur des périodes très longues.

→ Ces modifications métaboliques et le jeûne prolongé entraînent une ***baisse d'immunité*** *marquée à la sortie de l'hiver et au cours du printemps suivant. ←*

Lorsque cela peut être planifié, ***les anesthésies de tortues se feront de préférence en été****, saison pendant laquelle leur métabolisme et leur immunité fonctionnent de façon optimale.*

c- Des animaux possédant un système porte-rénal

Les poissons, les amphibiens et les reptiles présentent un système porte-rénal (SPR) qui existe à l'état embryonnaire chez les mammifères avant de régresser lors du développement. Ce système particulier aux vertébrés non mammifères draine le sang provenant du cloaque, de la queue, d'une partie des membres postérieurs et de l'appareil reproducteur en partie distale, avec généralement un premier passage par les reins avant d'attendre le foie (19).

Cette particularité des reptiles fait qu'il a longtemps été conseillé d'effectuer les injections en partie antérieure de l'animal, notamment par crainte d'un premier passage dans le rein avant d'atteindre la circulation générale pour les molécules à élimination rénale, ce qui les rendrait inefficaces. La réalité est à la fois plus complexe, plus nuancée et encore mal connue.

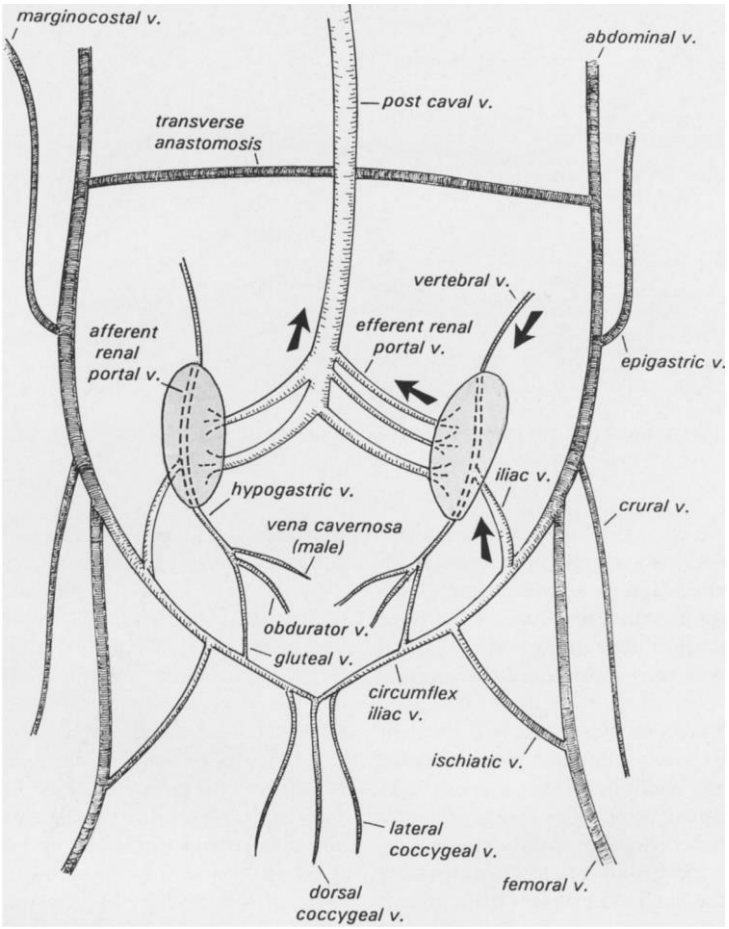

Figure 4: Anatomie du système porte-rénal en vue dorso-ventrale, d'après Holz et al. (20)

Une vue dorsale et une vue latérale du système porte-rénal chez la tortue de Floride sont présentées en figure 4 et 5, les flèches indiquant le sens de la circulation sanguine.

Deux sources de sang du SPR afférentes atteignent les reins : la veine porte rénale, issue des veines iliaques internes et externes, de la veine coccygienne dorsale et de la veine iliaque circonflexe qui se rejoignent en amont, ainsi que la veine vertébrale, qui va rejoindre le rein au même niveau que la veine hypogastrique.

Le système porte-rénal perfuse les tubules rénaux tandis que c'est l'artère rénale qui perfuse les glomérules. Trois veines porte-rénales efférentes émergent du rein droit, et deux du rein gauche, fusionnent pour former la veine post-cave, qui va rejoindre le foie au niveau de son lobe droit, le traverser et se déverser dans l'atrium droit du cœur. Il existe des anastomoses entre la veine porte-rénale et les veines portes efférentes, par lesquelles le sang peut être dévié, contournant ainsi le rein grâce à un système de valves.

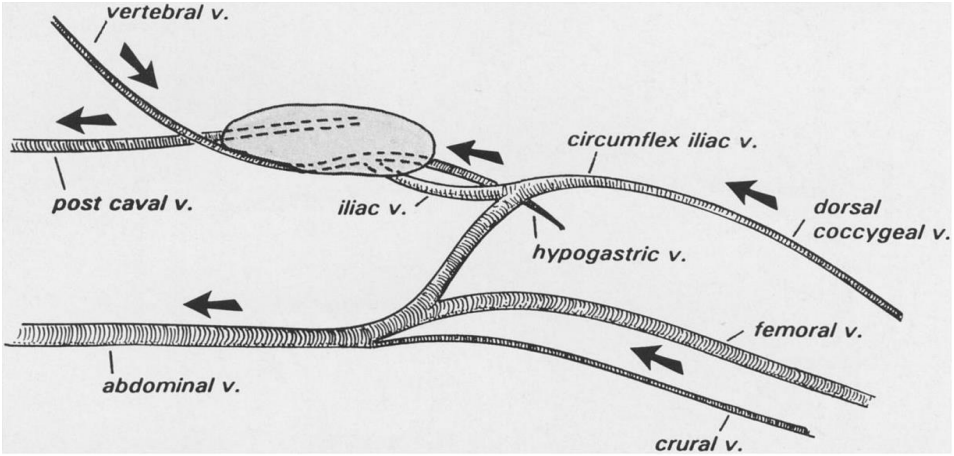

Figure 5: Anatomie du système-porte rénal en vue latérale, d'après Holz et al.(20)

Chez les reptiles, la capacité de réabsorption de l'eau par les reins est faible, et lors de sécheresse, l'eau est conservée en diminuant le débit de perfusion des glomérules. Le système porte rénal est alors indispensable pour assurer une perfusion continue des tubules rénaux proximaux et distaux lors de périodes de déshydratation, quand les glomérules sont moins perfusés.

L'existence du système porte-rénal chez les chéloniens pousse à effectuer les injections en partie crâniale des individus. Chez la tortue de Floride, les effets du système porte-rénal sur l'efficacité des molécules injectées ont été étudiés sur plusieurs molécules.

Une première étude portait sur deux antibiotiques, la carbenicilline et la gentamicine, injectés par voie intramusculaire. La différence de concentration plasmatique de ces antibiotiques en fonction du site d'injection a été mesurée chez des tortues de Floride (*Trachemys scripta elegans*) (21). Le site d'injection, dans le membre antérieur ou dans le membre postérieur, n'avait pas d'influence sur la concentration plasmatique en gentamicine, un antibiotique à élimination glomérulaire, tandis que la différence était significative pour la carbenicilline, dont l'élimination se fait par excrétion tubulaire. On observe en effet des concentrations plasmatiques plus basses lorsque l'antibiotique est injecté dans un membre postérieur.

Ces concentrations sont cependant amplement suffisantes pour que l'antibiotique soit efficace malgré le premier passage rénal, et le fait d'injecter la carbenicilline dans un membre postérieur n'altère pas son efficacité clinique.

Le système porte rénal a donc un effet sur les molécules à élimination tubulaire tandis que les molécules à élimination glomérulaire ne semblent pas affectées par ce système.

Plus récemment, le temps d'induction après l'injection de kétamine et de dexmédétomidine en divers sites a été comparé chez des tortues de Floride (22). Les injections étaient faites en IM dans le membre antérieur, en SC dans le membre antérieur, et en SC dans le membre postérieur. Les injections IM et SC dans le membre antérieur ont toutes deux permis une anesthésie profonde des individus étudiés, avec un temps d'induction plus long par voie sous-cutanée, tandis que les individus ayant reçu les injections SC au niveau du membre postérieur n'ont pas atteint le stade d'anesthésie souhaité.
Les molécules injectées dans les membres postérieurs en SC ont probablement été éliminées via le système porte-rénal, diminuant leur concentration plasmatique et ainsi leur efficacité.

Enfin, une étude portant sur l'efficacité du propofol en fonction de son site d'injection a été menée chez des Trachémyde à ventre jaune (*Trachemys scripta scripta*) (23). Le propofol était injecté dans le sinus veineux occipital pour le groupe A, dans le plexus veineux caudal sous-carapacier pour le groupe B et dans la veine coccygienne pour le groupe C. Seules les tortues du groupe A ont atteint un stade d'anesthésie avancée. Les individus des groupes B et C n'ont pas atteint le stade de sédation nécessaire pour être intubés. Face à ces résultats, différentes hypothèses sont avancées, en particulier celle d'un rôle important du système porte-rénal avec une élimination rapide de la drogue administrée. Chez les mammifères, le propofol est une molécule à métabolisation partiellement hépatique et à élimination rénale. Une élimination rénale chez la tortue pourrait expliquer l'implication du SPR lors d'injections dans le quart distal des chéloniens.

La conclusion de ces études reste à interpréter avec précaution. En effet, peu de molécules ont été étudiées chez les reptiles, on ne connaît pas forcément leur pharmacocinétique, et le flux sanguin traversant le système porte-rénal est très variable, notamment en fonction du stress, du statut d'hydratation de l'animal et de la température.

Dans le doute et par simplification, on préférera les injections dans le quart antérieur des chéloniens.

Résumé

Présence chez les chéloniens d'un ***système porte-rénal*** *qui draine le sang provenant de la partie postérieure de l'animal (membres postérieurs, queue, etc) avec un premier passage rénal des molécules avant d'atteindre le foie -> pose un problème pour le métabolisme des molécules à élimination rénale.*

Fonctionnement encore mal connu de ce SPR qui semble affecter uniquement les molécules à ***élimination tubulaire****. Le métabolisme des différentes molécules est lui aussi méconnu chez les chéloniens.*

Par précaution et pour éviter ce premier passage rénal, les molécules anesthésiques (et autres) seront injectées en partie antérieure chez les tortues (IM et SC dans les membres antérieurs, IV dans la veine jugulaire)

II- L'anesthésie doit prendre en compte les spécificités anatomiques des tortues

a- Système respiratoire

Les poumons des reptiles sont plus grands que ceux des mammifères proportionnellement à leur taille, et bien moins cloisonnés et non alvéolés. Les échanges gazeux se font au niveau de cryptes organisées en réseau, appelées faveoli ou ediculi, analogues aux alvéoles que l'on trouve chez les mammifères. Le grand volume d'air ainsi contenu dans les poumons aide les reptiles aquatiques à la flottaison. D'ailleurs chez les tortues, ceux-ci sont localisés en partie dorsale de la cavité cœlomique, et jouent le rôle de flotteurs lors de la nage, leur permettant de remonter à la surface plus aisément, défiant ainsi la gravité.

Chez les chéloniens, la présence de la carapace limite l'expansion de leurs poumons spongieux lors de la respiration. Ceux-ci s'attachent en partie ventrale du périoste de la carapace dorsale et à la colonne vertébrale via un ligament pulmonaire. Les poumons sont multicarcéraux : leur structure interne est multicloisonnée, et les surfaces d'échange sont connectées à une bronche intrapulmonaire (figure 6). Les tortues possèdent une structure proche du diaphragme, appelée septum horizontal, qui sépare partiellement la cavité cœlomique en cavité pleurale et cavité péritonéale. Cette structure ne joue cependant aucun rôle dans la respiration, et les mouvements respiratoires sont permis par une forte musculature tronculaire, ainsi que par les muscles transverses et obliques de l'abdomen. Ces mouvements sont accentués par les mouvements des membres, qui provoquent des changements de pression au sein de la cavité cœlomique. (24)

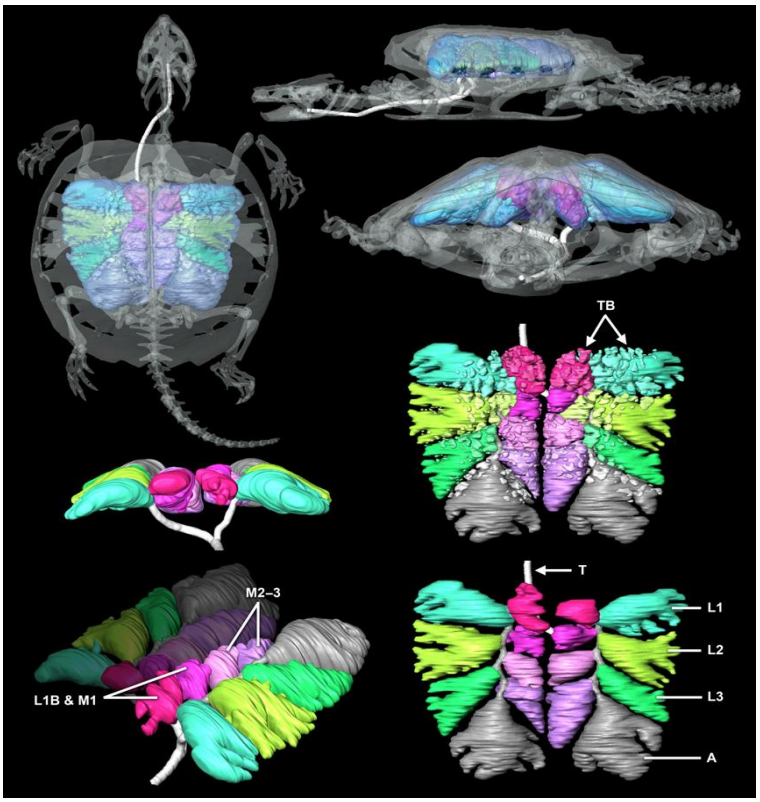

Figure 6: Anatomie du tractus respiratoire inférieur d'une tortue aquatique (Chelydra serpentina), d'après Schachner et al.(25)

Les tortues respirent par leurs narines, gardant leur cavité orale fermée. Une respiration à bouche ouverte est généralement un signe évocateur de problème respiratoire. L'air entre dans la cavité nasale qui communique avec la cavité orale, où la glotte se situe à la base de la langue. La trachée est courte, constituée d'anneaux trachéaux complets qui bifurquent directement en arrière de la glotte chez une majorité d'espèces. Chez la tortue de Floride adulte, la trachée se prolonge sur 7-10 cm avant de bifurquer à l'entrée de la cavité thoracique (figure 7).

Figure 7 : Vue ventro-dorsale de l'appareil respiratoire supérieur d'une Trachémyde et mesure de la trachée. Photo© Laurène Gantner

Ces particularités ont des conséquences sur l'anesthésie. L'intubation est possible chez les chéloniens. Cet acte doit être effectué avec une attention particulière en prenant en compte la longueur de la trachée de l'animal pour chaque espèce. Le diamètre de la trachée est également un élément déterminant dans le choix de la sonde d'intubation, et les ballonnets ne doivent jamais être gonflés afin de ne pas léser les anneaux trachéaux complets et rigides. Pour les tortues de Floride, qui sont des animaux dont la taille varie entre 20 et 30cm, la taille et la longueur de leur trachée (7 à 10 cm de long) permettent d'y insérer un cathéter d'environ 2mm de diamètre et 5cm de long sans forcer. Cet acte nécessite cependant une relaxation musculaire de l'animal au préalable afin de maintenir la cavité buccale ouverte pour insérer le cathéter dans la trachée en passant par la glotte.

L'induction par inhalation n'est pas envisageable, il faudrait maintenir un masque hermétique sur la face de la tortue qui rentrerait sa tête pour y échapper. Or, la position « tête rentrée » bloque la respiration des chéloniens. De plus les tortues aquatiques peuvent faire des apnées prolongées qui rendent également impossible l'induction par inhalation.

Les apnées des chéloniens vont également avoir d'autres conséquences sur l'anesthésie. D'une part l'utilisation de molécules provoquant une dépression respiratoire aura un impact bien moins négatif que sur les mammifères domestiques.

D'autre part, il faut limiter cette apnée pour éviter au maximum de passer en métabolisme anaérobie, beaucoup plus lent, ce qui impacterait l'efficacité des molécules administrées. Pour cela, il est conseillé de ventiler artificiellement les tortues au moins une fois par minute.

Résumé

Décubitus :
Poumons en face dorsale : éviter le décubitus dorsal prolongé notamment lors d'anesthésies.

Intubation :
Glotte à la base de la langue : facilité d'intubation après sédation profonde ou anesthésie.
Anneaux trachéaux complets : ne pas gonfler de ballonnet chez les chéloniens !
Pour les tortues de Floride : intuber avec un cathéter de 2mm de diamètre et 5 cm de long.

Anesthésie gazeuse :
Impossibilité d'induire une anesthésie avec un agent volatil : tête qui se rétracte induisant une apnée, apnées volontaires prolongées à l'odeur du gaz anesthésique.
Ventilation artificielle conseillée pour éviter un passage en métabolisme anaérobie (un mouvement par minute minimum)

b- Système cardio-vasculaire

L'anatomie cardiaque des chéloniens est sensiblement différente de celle des mammifères. En effet, leur cœur est composé de trois cavités : deux atriums et un ventricule unique.

- L'atrium droit est précédé d'un sinus veineux, et reçoit le sang provenant de la circulation générale. Le sinus veineux résulte de la confluence des veines caves crâniales droites et gauche et de la veine cave caudale. La paroi de ce sinus veineux est constituée de muscle cardiaque et de terminaisons nerveuses qui jouent le rôle de pacemaker.

- L'atrium gauche reçoit le sang oxygéné en provenance des poumons via les veines pulmonaires.

- Le ventricule est constitué de 3 subventricules, séparés par des cloisons incomplètes qui participent à orienter le flux sanguin en limitant les échanges entre le sang oxygéné et non-oxygéné. Ces parois sont constituées de fibres musculaires lisses, et orientent le flux grâce à leurs contractions. Les trois chambres sont le *cavum pulmonale*, le *cavum arteriosum* et le *cavum venosum*.

Ces chambres communiquent entres elles par un canal interventriculaire. Le ventricule fonctionne comme une pompe unique, générant une pression identique dans le *cavum pulmonale* et le *cavum venosum*. (Figure 8)

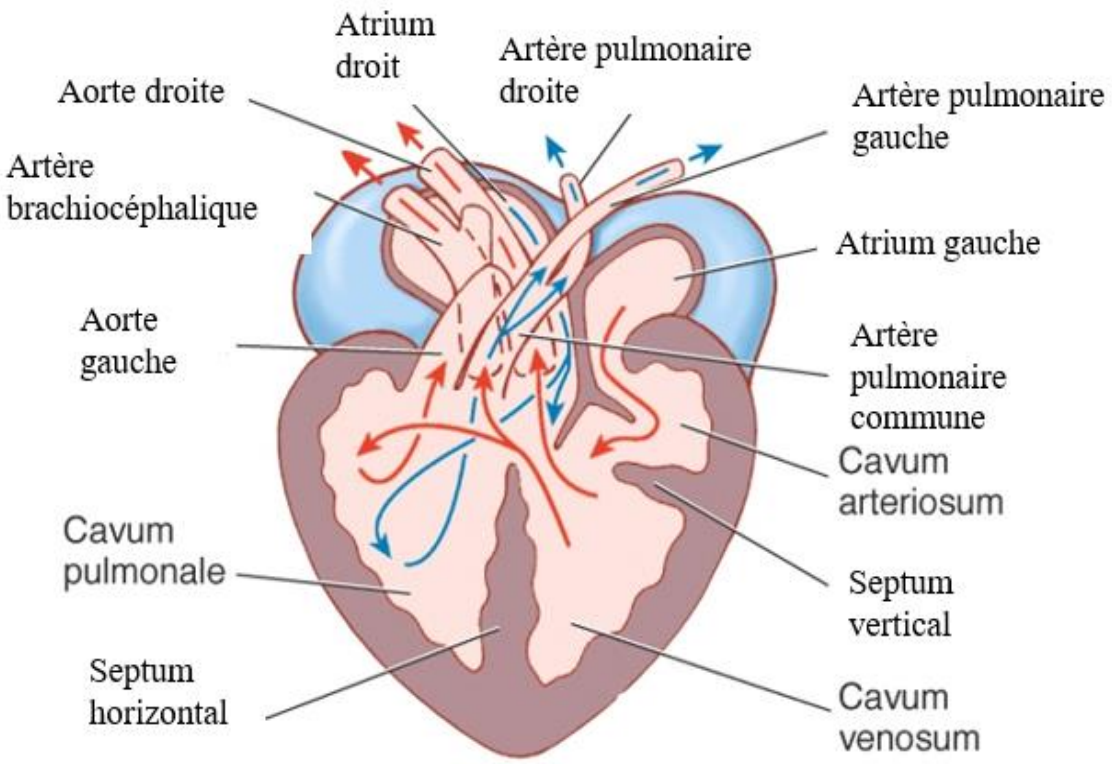

Figure 8: Anatomie cardiaque des reptiles non crocodiliens d'après « Heart Anatomy on Different Vertebrates » *(26)*

Cette anatomie unique rend possible des shunts cardiaques droite-gauche et gauche-droite entre les chambres ventriculaires.

Dans le shunt « right to left » (R-L), le sang désoxygéné quitte le ventricule droit en passant par le septum incomplet pour retourner dans la circulation systémique, en court-circuitant la circulation pulmonaire.

Inversement, dans le shunt "left to right" (L-R), le sang riche en oxygène provenant de la circulation pulmonaire va retourner une nouvelle fois dans la circulation pulmonaire.

La direction et l'importance du flux de ces shunts intracardiaques sont imposées par les différences de résistance vasculaire et de pression entre la circulation systémique et celle pulmonaire. Ces équilibres varient avec le tonus parasympathique, lui-même influencé par différents paramètres (PCO_2, T°, administration de molécules). Par exemple, les chéloniens vont totalement court-circuiter la circulation pulmonaire (shunt R-L) lorsque la résistance vasculaire de celle-ci est élevée, en réponse à un fort tonus parasympathique.

Les shunts intracardiaques sont présents en permanence et varient continuellement en lien avec la ventilation. Une prévalence du shunt R-L se retrouve durant les phases d'apnée, tandis que le shunt L-R va dominer pendant la respiration. (27)

L'utilité des shunts chez les reptiles n'est pas totalement élucidée. Il semblerait que le shunt L-R permette une meilleure oxygénation du myocarde en faisant passer un sang riche en oxygène dans le ventricule droit, recevant normalement le sang systémique désoxygéné. Or, le myocarde a un besoin accru en oxygène lorsque son activité augmente, ce qui est le cas lors de la ventilation des reptiles. Le shunt L-R prédomine effectivement à ce moment-là .(28) Le shunt R-L quant à lui aurait différents rôles comme faciliter la conservation de la température interne en évitant le refroidissement du sang lors du passage au niveau des poumons, ou encore la réduction de l'afflux de dioxyde de carbone dans les poumons lorsque l'animal est en apnée (29).

Ces shunts ont des répercussions importantes sur l'anesthésie par des agents volatils chez les chéloniens. Lors de shunt R-L, le sang est dévié de la circulation pulmonaire, et l'anesthésique est très peu absorbé au niveau des capillaires sanguins pulmonaires (30). Ainsi, les concentrations alvéolaires minimales (CAM) n'ont jamais été définies chez les chéloniens puisque pour un débit constant d'agent volatil, la profondeur de l'anesthésie va continuellement fluctuer en fonction des shunts cardiaques au cours de la procédure. Cette particularité anatomique complique davantage encore l'anesthésie chez les chéloniens.

Il a cependant été démontré en 2018, chez des tortues charbonnières à pattes rouges, que l'on peut obtenir une anesthésie gazeuse stable à l'isoflurane en supprimant le shunt cardiaque R-L à l'aide d'atropine, et ainsi établir des CAM. Le débit sanguin dans la circulation pulmonaire est significativement plus élevé après administration d'atropine, tandis que le flux de la circulation systémique demeure quasiment inchangé. (figure 9)

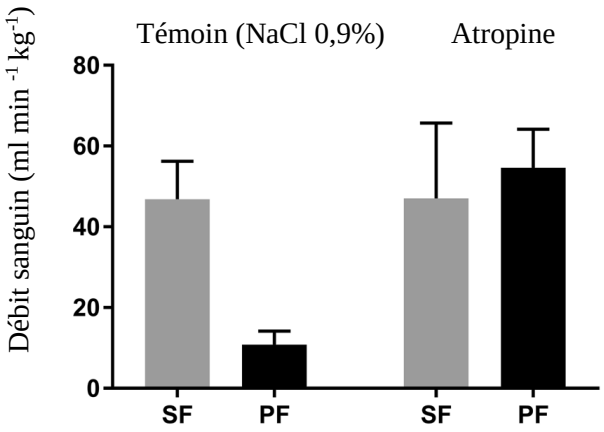

Figure 9 : Débit sanguin systémique (SF) et pulmonaire (PF) chez cinq tortues charbonnières (Chelonoidis carbonaria) durant une anesthésie gazeuse à l'isoflurane, après injection de solution saline (NaCl 0,9%) ou d'atropine (1mg/kg). D'après GREUNZ E.M. et al.(27).

Dans l'étude menée, une administration de d'atropine à la posologie de 1mg/kg chez Chelonoidis carbonaria supprime le shunt R-L prédominant lors d'anesthésies volatiles et une anesthésie à l'isoflurane est possible avec une CAM de 2,2 ± 0,3%.

A cette anatomie cardiaque particulière chez la tortue s'ajoutent des particularités de l'appareil circulatoire avec un système porte-rénal permettant également des shunts vasculaires. Ce dernier est détaillé en partie I.a. et affecte aussi le choix du protocole anesthésique pour les chéloniens (27).

Résumé

Les tortues ont une anatomie cardiaque particulière avec une communication entre les chambres ventriculaires, rendant possible des shunts, dont le sens du flux dépendra de nombreux paramètres. Par exemple, la circulation pulmonaire sera shuntée lors de phases d'apnées.

Conséquences importantes sur l'anesthésie des chéloniens : variabilité totale de l'anesthésie volatile en fonction de si l'animal est en apnée, et des shunts cardiaques qui vont fluctuer tout au long des procédures.

La CAM n'a jamais pu être définie chez les Chéloniens à cause de ces shunts cardiaques.

c- Présence d'une carapace

Les Chéloniens sont caractérisés par leur carapace qui est composée d'environ cinquante os. Ces os sont particuliers : ils dérivent des mêmes structures embryonnaires que les côtes, les vertèbres et divers éléments du derme. Deux parties principales constituent cette carapace : la dossière, présente dorsalement et le plastron, présent ventralement. Ces deux parties sont reliées par des ponts osseux ou ligamentaires selon les espèces (ligamentaires chez les espèces *Cistudo, Emys, Platysternon* par exemple) et forment un squelette externe ayant une fonction de protection de la tortue et de ses organes internes.

Quelle que soit la partie de la carapace, on observe deux couches de nature différente. De l'extérieur vers l'intérieur, on trouve en premier les écailles (ou cornéoscutes), qui constituent la couche cornée épidermique. Ensuite, les plaques osseuses (ou ostéoscutes) constituent la couche osseuse dermique.

La carapace protège l'ensemble du corps de la tortue à l'exception de la tête et des membres. Sa présence modifie profondément les accès chirurgicaux, et impose des contraintes importantes pour l'abord de tous les organes vitaux. Ces contraintes vont influer sur le temps d'intervention chirurgical, qui sera beaucoup plus important que chez d'autres espèces (pour une pathologie semblable). Lors de l'élaboration d'un protocole anesthésique, il est important de prendre en compte ce temps d'intervention nettement augmenté chez les chéloniens en raison de la présence de leur carapace.

Dans le cadre de la stérilisation des tortues de Floride, deux voies d'abord sont décrites : la voie transplastrale, et la voie préfémorale. Dans le cadre de l'étude, la voie préfémorale, moins invasive, a été choisie (figure 10).

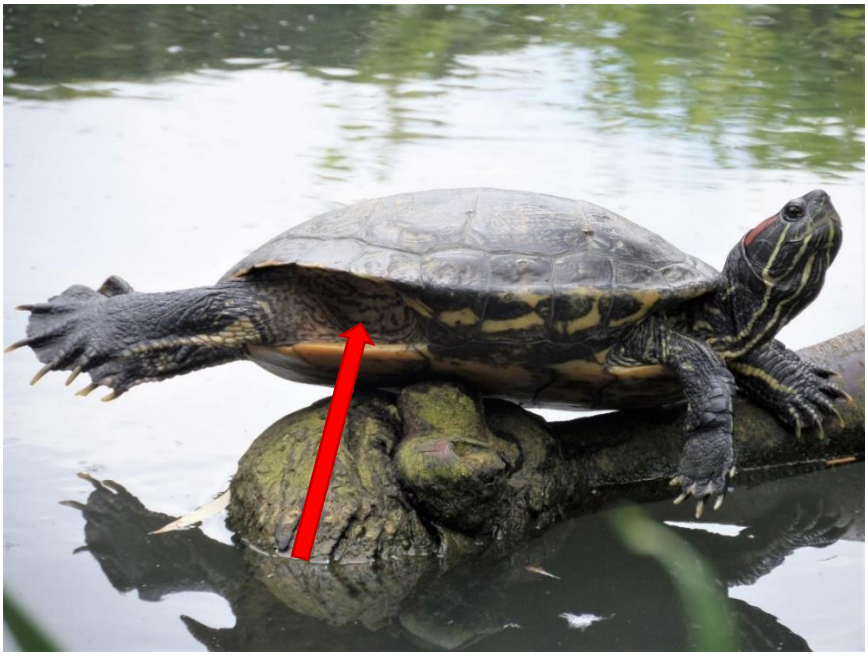

Figure 10: Voie d'abord préfémorale chez une tortue de Floride (Trachemys scripta elegans). Photo© Noémie Guillevic

La cœliotomie transplastrale :

L'ostéotomie plastrale, ou plastronomie, consiste en l'ouverture d'une fenêtre dans le plastron de la tortue. Le processus de réalisation du volet plastral peut prendre jusqu'à 45 minutes, après quoi vient le temps opératoire classique que l'on pourrait retrouver chez d'autres reptiles pour des pathologies identiques (dystocies, corps étranger …). (31)

Cette voie d'abord est extrêmement invasive. Elle est plus douloureuse que la cœliotomie et la cicatrisation est très longue par la suite, allant jusqu'à 18 semaines. Elle est de moins en moins utilisée au profit de l'abord inguinal, moins invasif. (32)

La plastronomie présente cependant des avantages notoires. Elle offre un accès à tous les organes de la cavité cœlomique et une seule ouverture est nécessaire. La taille de la fenêtre réalisée peut être adaptée en fonction de celle des structures à extérioriser. Elle est donc à privilégier lorsque les examens d'imagerie médicale ont révélé des œufs de trop grande taille pour être extériorisés par la fosse préfémorale.

Cœliotomie précrurale, inguinale ou préfémorale (figure 11) :

L'abord par la fosse préfémorale (ou inguinale) se fait sous anesthésie générale avec une analgésie adaptée à l'intervention chirurgicale et un monitoring cardiorespiratoire adéquat. La tortue est placée en décubitus latéral et préparée avec un champ stérile. Une incision cutanée horizontale crânio-caudale est réalisée au centre de la fosse préfémorale. Les plans musculaires sont disséqués afin de visualiser la cavité cœlomique (33).

La présence de la carapace autour de l'ouverture réalisée limite l'amplitude des mouvements du chirurgien, ainsi que la visibilité dans la cavité cœlomique (ombres projetées). La coelioscopie est couramment décrite lors de chirurgies de l'appareil reproducteur par voie inguinale chez les tortues. Elle permet une visualisation plus rapide des structures profondes comme les ovaires. Enfin, le chirurgien peut s'aider en utilisant un rétracteur circulaire, des élastiques et des forceps afin d'écarter les structures. (34) (35) (36)

Figure 11: Stérilisation d'une tortue de Floride par voie inguinale. Retrait de la grappe ovarienne par une ouverture d'environ 2,5cm de long. ©Laurène Gantner

A la fin de la chirurgie, il suffit de quelques points de suture avec un fil résorbable sur les plans musculaires et cutanés pour obtenir une bonne récupération post-chirurgicale et une cicatrisation rapide (quelques semaines).

La cœliotomie par abord préfémoral présente de nombreux avantages :

- Accès plus rapide et aisé à la cavité cœlomique
- Moins douloureux
- Cicatrisation beaucoup plus rapide
- Moins de complications

Cependant, la stérilisation par la voie inguinale présente aussi des inconvénients, comme un accès très limité aux organes crâniaux de la cavité cœlomique (estomac, duodénum). L'extériorisation de structures de taille trop importante (œuf dystocique par exemple) n'est pas toujours possible et l'ostéotomie sera alors préférée. Enfin, cette technique nécessite d'intervenir et d'opérer des deux côtés pour retirer les follicules à droite et à gauche de l'animal, ce qui multiplie le temps d'intervention chirurgical par deux.

Quelle que soit la technique utilisée pour accéder à la cavité cœlomique, la présence de la carapace est un obstacle qui augmente significativement le temps d'intervention chirurgical en imposant des contraintes importantes. L'abord est très invasif et plus long avec l'ostéotomie transplastrale, mais la visibilité et la liberté de mouvement pour accéder à la cavité cœlomique sont réduits par abord inguinal.

Quelle que soit l'intervention, les chirurgies dans la cavité cœlomique ont une durée généralement supérieure à 30 minutes et peuvent se prolonger plusieurs heures. Les protocoles anesthésiques doivent s'adapter à cette particularité liée à l'anatomie des chéloniens, et une maintenance de l'anesthésie à l'aide d'agents volatils est très souvent indiquée.

Résumé

Le temps d'intervention chirurgicale est augmenté chez les chéloniens à cause de la présence d'une carapace.

Les anesthésies sont souvent longues, et le protocole anesthésique doit s'y adapter. Il faut prévoir un relais gazeux pour maintenir l'anesthésie, avec les contraintes associées (shunt cardiaque), ou réitérer les injections d'agents anesthésiques (kétamine, alfaxalone...etc.).

Différentes voies d'abord existent. La cœliotomie par voie inguinale (ou préfémorale) est souvent préférée et procure de nombreux avantages, dont un temps d'intervention plus court et par conséquent une anesthésie moins longue également.

III- Les tortues présentent une pharmacocinétique singulière : bilan des molécules anesthésiques et analgésiques utilisées (résumé disponible en annexe 1 et 2)

L'anesthésie est un acte médical qui a pour objectif la perte de conscience, la relaxation musculaire, l'immobilité et la suppression de la sensibilité douloureuse chez un patient, à l'aide de différentes molécules associées selon leurs propriétés pharmacologiques et leurs synergies. L'anesthésie peut être adaptée dans sa durée et sa profondeur, permettant ainsi sur des animaux sauvages la réalisation d'actes de routine (prise de sang, check-up) ou de chirurgies plus invasives.

L'anesthésie des reptiles, en particulier la pharmacocinétique des molécules administrées ainsi que leurs effets (escomptés ou secondaires) sont des domaines encore peu étudiés. Les doses indiquées pour l'utilisation des molécules anesthésiques, analgésiques ou sédatives varient selon les sources. Par exemple pour la kétamine, les doses citées pour les reptiles s'étalent de 2 à 80 mg/kg en IM, selon le poids, l'espèce et la littérature. Il est important de se rappeler que les doses et les effets des molécules administrées peuvent être variables chez un même individu en fonction de son statut métabolique, et influencé par de nombreux paramètres dont la température extérieure. La température d'administration des molécules chez les chéloniens devrait correspondre à leur intervalle de température préférée corporelle.

Les doses indiquées ici pour l'anesthésie des tortues de Floride seront citées avec la source correspondante, et sont données à titre d'indication. Le choix des doses relèvera toujours de la responsabilité du vétérinaire en charge de l'anesthésie, qu'il adaptera en fonction de l'état clinique du patient et de sa propre expérience.

a- Pour la prémédication

La prémédication chez les reptiles a pour objectif une sédation de l'individu préalable à l'induction de l'anesthésie, avec un état de conscience altéré qui va permettre au patient de mieux tolérer les actes médicaux qui suivront, et qui assure une meilleure sécurité au manipulateur. La prémédication permet également d'intégrer un protocole d'analgésie en prévention d'une intervention douloureuse, ou encore de diminuer les doses d'agent anesthésique à utiliser grâce à leur action synergique.

i. Anticholinergiques

Leur utilisation reste anecdotique chez les reptiles. Ils peuvent être utilisés pour prévenir une éventuelle bradycardie ou pour limiter les secrétions orales et respiratoires qui risqueraient d'obstruer la sonde endotrachéale, notamment chez les espèces de petite taille intubées à l'aide de cathéters veineux.

L'atropine s'emploie à 0,01-0,04 mg/kg et le **glycopyrrolate** à 0,01 mg/kg injectés en IM 10 à 15 minutes avant l'induction pour ces indications.

De façon moins anecdotique, il pourrait être judicieux d'administrer de l'atropine avant une anesthésie pour éviter le shunt cardiaque R-L. En effet, comme expliqué précédemment, l'atropine administrée en IV à la dose de 1mg/kg semble court-circuiter le shunt cardiaque chez les tortues, d'après une étude effectuée sur des tortues charbonnières à pattes rouges (*Chelonoidis carbonaria*) (27). Cette étude a été réalisée sur une unique espèce de tortue terrestre. Il serait intéressant d'étendre cette étude à d'autres espèces de tortues, afin de confirmer l'effet de l'atropine chez des tortues aquatiques ou semi-aquatiques par exemple.

ii. Les phénothiazines

La principale molécule de cette famille est l'**acépromazine**. Chez les reptiles, les effets sont individu-dépendants. Les doses décrites varient considérablement selon les sources, de 0,1mg/kg à 1 mg/kg. Il semblerait que cette molécule ait un effet sédatif très limité et nécessite des doses importantes pour obtenir une sédation, associées à des effets prolongés. (37)

L'acépromazine peut être utilisée pour potentialiser l'effet de la kétamine, mais cet intérêt reste limité. En effet, à doses de kétamine identiques (10 mg/kg), l'utilisation d'acépromazine à 1mg/kg permet une induction de l'anesthésie légèrement plus rapide que pour l'association kétamine- xylazine (1mg/kg), mais près de 50% plus longue que lorsque la kétamine est utilisée en association avec du diazépam (2mg/kg). (38)

Les effets peu concluants de l'acépromazine en termes de sédation, et son intérêt limité en tant que potentialisant de la kétamine en font une molécule très peu utilisée chez les chéloniens.

iii. Les benzodiazépines

Les molécules concernées sont le **diazépam** et le **midazolam**. Les benzodiazépines n'ont pas d'effet analgésique mais ont un effet légèrement sédatif et myorelaxant chez les reptiles. Elles ont peu d'effets délétères.

Le midazolam est la benzodiazépine la plus utilisée chez les reptiles. Peu sédative, elle est utilisée surtout pour son effet potentialisant : son utilisation permet de réduire considérablement les doses des agents anesthésiques utilisés pour l'induction. (Propofol, kétamine).

Les études sur l'utilisation des benzodiazépines chez les chéloniens montrent des résultats variables, certaines ne leur attribuant aucun effet sédatif. Les doses varient entre 1 et 2mg/kg par voie intraveineuse. Ces études sont menées sur des espèces différentes, et dans des cadres différents, à des températures différentes.

Nous pouvons retenir l'une de ces études, menées chez des tortues de Floride (Trachemys scripta elegans) à une température située entre 23 et 27°C, leur intervalle de température

préférée corporelle étant 22-30°C. Cette étude montre que le midazolam a un effet sédatif sur toutes les tortues de l'expérience à la dose de 1,5mg/kg, provoquant une relaxation musculaire sans aucun effet cardio-respiratoire indésirable. (39) Lorsque le midazolam est utilisé en combinaison avec une molécule anesthésique, la dose décrite chez les tortues de Floride est de 1mg/kg IV. (40)

iv. Les agonistes alpha2-adrénergiques :

L'utilisation d'alpha2 agonistes, en particulier de médétomidine, est décrite chez les chéloniens, généralement associée à de la kétamine.

La **médétomidine** a un effet sédatif et légèrement analgésique grâce à sa liaison aux récepteurs alpha-2 centraux. Son effet analgésique a été démontré en 2013 chez la tortue de Horsfield. La médétomidine à la dose de 0,10mg/kg apportait un effet analgésique au protocole anesthésique à base d'alfaxalone. Cet effet analgésique du protocole anesthésique n'était pas mis en évidence avec une dose plus faible de médétomidine (0,05mg/kg) ou avec de l'alfaxalone utilisée seule. (41)

La **médétomidine** induit également une relaxation musculaire suffisante pour procéder à une intubation trachéale. Son action entre en synergie avec les opioïdes et les benzodiazépines, permettant de réduire jusqu'à 70% les doses recommandées. Un autre avantage de cette molécule est la possibilité de la reverser avec de l'**atipamézole**. Les effets indésirables de cette molécule sont une dépression cardio-respiratoire, une hypertension et une vasoconstriction périphérique. La dose recommandée de médétomidine pour les reptiles varie entre 50 et 300µg/kg par voie intramusculaire selon l'espèce (42). Pour la tortue de Floride des doses allant de 0,1 à 0,2mg/kg de médétomidine sont utilisées combinée ou non à de la kétamine. (43)

La **dexmédétomidine**, l'énantiomère dextrogyre de la médétomidine, peut être substituée à la médétomidine. L'énantiomère lévogyre n'ayant aucune propriété pharmaceutique, la dexmédétomidine est deux fois plus puissante que la médétomidine qui correspond au racémique. Les doses de dexmédétomidine à utiliser sont donc la moitié des doses habituelles de médétomidine, soit 0,05mg/kg à 0,1mg/kg de dexmédétomidine chez les tortues de Floride.

L'**atipamézole** administré à une dose 5 fois supérieure à celle de médétomidine et 10 fois supérieure à la dose de dexmédétomidine permet une réversion de ces molécules. L'administration d'atipamézole après une intervention va permettre d'écourter les temps de réveil et de récupération des animaux. Lors d'anesthésies de chéloniens avec de la médétomidine (ou dexmédétomidine) et de la kétamine, l'utilisation d'atipamézole est systématiquement décrite dans la littérature (43,44).

La **xylazine** peut être utilisée comme sédatif ou myorelaxant, mais son emploi reste très peu décrit chez les chéloniens. La xylazine peut être réversée avec de l'atipamézole ou de la

yohimbine. Ses effets indésirables sont proches de ceux décrits pour la médétomidine. Cette molécule est généralement administrée à des doses variant de 1 à 2mg/kg en association avec de la kétamine. (45)

v. Les opioïdes

Cette famille regroupe les molécules qui agissent sur les récepteurs μ et/ou κ. Parmi elles se trouvent par exemple la **morphine**, le **tramadol**, ou encore l'**hydromorphone**, dont l'utilisation est parfois décrite chez les chéloniens. Ces molécules entrent en synergie avec les α-2-agonistes et les phénothiazines, et sont analgésiques, deux critères qui les rendent intéressantes pour une utilisation en prémédication. Ces molécules sont antagonisables avec de la naloxone.

Une étude sur l'implication des récepteurs μ et κ dans la nociception a été menée chez les tortues de Floride. Elle met en évidence une plus grande implication des récepteurs μ dans la nociception et un rôle mineur des récepteurs κ. (46)

Bien que souvent utilisée en prémédication, ces molécules sont des analgésiques purs, nous les détailleront ainsi davantage dans la partie III.d. concernant l'analgésie des chéloniens.

Bilan pour la prémédication :

De nombreuses molécules habituellement utilisées en prémédication pour leurs propriétés sédatives ou analgésiques semblent sans effet sur les chéloniens, même à des doses élevées. Quelques molécules peuvent néanmoins être recommandées :

*Pour l'analgésie, les **opioïdes μ-agonistes** sont utilisables chez les tortues de Floride. La **morphine** et le **tramadol** sont les deux molécules qui semblent le plus efficace d'après les études menées (cf. III.d.).*

*Les **alpha-2-agonistes** sont des molécules très intéressantes chez les chéloniens pour la prémédication. En effet, elles permettent de réduire les doses de kétamine utilisées pour l'anesthésie tout en ayant un effet sédatif et légèrement analgésique. La molécule dont les effets sont le mieux décrit chez la tortue de Floride est la **médétomidine**.*

b- Les anesthésiques injectables : l'induction.

L'anesthésie est induite lorsque la concentration des molécules anesthésiques injectées est suffisamment élevée dans le cerveau pour obtenir les effets escomptés.

Les molécules sont apportées au cerveau par le sang issu de l'éjection systolique. L'efficacité et la vitesse de l'induction sont ainsi très dépendantes de la fonction cardiovasculaire. Chez les tortues, l'induction sera ainsi étroitement liée à son métabolisme et à la température du milieu. Le système porte-rénal des tortues influera également sur le métabolisme des molécules et leurs effets, raison pour laquelle les injections sont conseillées en parties antérieure des patients.

Il existe diverses familles de molécules utilisables chez les reptiles pour l'induction de l'anesthésie, présentant des avantages et des inconvénients à évaluer en fonction de chaque situation.

i. Les anesthésiques dissociatifs

La **kétamine** a été longtemps utilisée seule chez les reptiles, pour son effet dissociatif, entrainant une immobilisation de l'animal par action sur les récepteurs NMDA. Cependant, la molécule utilisée seule requérait des doses très élevées allant jusqu'à 230 mg/kg chez certains reptiles et provoquait des effets indésirables importants : tonus musculaire élevé, hypersalivation, etc.

L'association de la kétamine à de la médétomidine présente de nombreux avantage grâce aux effets myorelaxant et analgésiques de la molécule (47). La médétomidine permet de diminuer les doses de kétamine utilisées tout en prolongeant la durée de l'anesthésie. Bien que l'utilisation de ce protocole d'induction soit souvent décrite, les durées d'induction et les effets varient selon les études, ainsi que les doses utilisées, et il n'existe pas de consensus fiable avec un protocole précis pour chaque espèce de reptile.

La kétamine peut être administrée par voie intramusculaire, sous-cutanée ou intra-osseuse. La dose la plus communément admise est de 10mg/kg par voie intramusculaire chez Trachemys scripta elegans, en association avec de la médétomidine 0,2mg/kg ou de la dexmédétomidine 0,1mg/kg, avec une température ambiante allant de 23 à 28 degrés selon les études (48). A cette dose, il est possible d'effectuer des actes chirurgicaux (incision cutanée et sutures).(43)

Par voie intramusculaire, la kétamine permet une induction de durée variant entre 10 et 30 minutes en moyenne. La voie d'administration sous-cutanée procure une profondeur d'anesthésie similaire à la voie intramusculaire, avec cependant un temps d'induction prolongé et des résultats plus variables. Elle est toutefois à prendre en considération lors de l'injection de volumes importants, et pour sa facilité de réalisation et la sécurité du manipulateur sur des espèces agressives. (22)

La maintenance de l'anesthésie après induction avec de la kétamine peut se faire avec un anesthésique volatil, ou des injections régulières de kétamine (toute les 30 à 60 minutes, à la dose de 10mg/kg). Il est à noter cependant que le maintien de l'anesthésie avec de la kétamine prolonge considérablement les temps de réveil et de récupération, ces derniers pouvant aller jusqu'à une semaine pour une dose cumulée de 100mg/kg.

L'anesthésie fixe avec la kétamine est facile à réaliser et sûre chez les reptiles. Il convient de l'associer à un myorelaxant (en prémédication) et un analgésique si une procédure considérée comme douloureuse ou invasive va être réalisée.

ii. Les alkylphénols

Le **propofol** est un agent anesthésique qui s'administre par voie intraveineuse. Son administration par voie intra-osseuse est décrite chez l'iguane vert, mais n'est pas évaluée chez d'autres espèces de reptiles (49). Il n'a pas d'effet analgésique, et est largement utilisé en médecine vétérinaire chez les carnivores domestiques.

Chez les chéloniens, la biodisponibilité de cette molécule va être fortement influencée par son site d'injection, notamment à cause du shunt porte-rénal. L'injection du propofol peut se faire dans le sinus veineux supravertébral, à des doses comprises entre 10 et 20 mg/kg chez la tortue de Floride. Il peut également être injecté dans la veine jugulaire, bien que cet acte soit technique. Ces doses produisent une anesthésie qui permet de courtes procédures ou l'induction d'une anesthésie avant une maintenance par un relais gazeux tel que l'isoflurane. (50)

L'induction et le réveil d'anesthésie avec cette molécule sont très rapides, autour de trois minutes environ, ce qui lui procure un avantage intéressant par rapport à la kétamine.

La maintenance peut se faire avec des réinjections régulières de propofol par voie intraveineuse si un cathéter a été placé, à la dose de 1mg/kg/min. Sinon, le relais avec un agent anesthésique volatil est possible.

Le propofol a des effets cardiorespiratoires importants, et provoque des apnées à l'injection. Les animaux doivent préalablement être intubés avant toute administration de propofol afin de pallier une dépression respiratoire importante.

Finalement le propofol reste peu utilisé chez les reptiles, pour deux raisons principales : son coût élevé, et la voie d'administration intraveineuse. Cette molécule est intéressante pour des reptiles dont l'accès veineux est aisé, et pour des procédures de courte durée.

iii. Les neurostéroïdes

L'**Alfaxalone** est un agent anesthésique qui présente l'avantage d'être administrable en IV tout comme en IM. Cette particularité en fait un agent de choix dans l'anesthésie des reptiles. De plus, l'alfaxalone n'induit pas d'effets respiratoires ou cardiovasculaires néfastes.

Les durées d'induction sont variables, allant de quelques secondes lors d'injections IV, à plusieurs minutes (jusqu'à 30) en IM.
Les temps d'induction dépendent fortement de la température ambiante et des doses choisies. L'alfaxalone est inefficace lorsqu'elle est administrée par voie sous cutanée. Des échecs d'anesthésie IM peuvent être reliés à une erreur de manipulation, avec le produit anesthésique injecté en SC.

L'anesthésie avec l'alfaxalone n'est que de courte durée, et un relais gazeux sera nécessaire pour maintenir une anesthésie au-delà de 20 à 30 minutes.

Des études ont été menées chez la tortue de Floride, avec des doses variant de 5mg/kg IM à 20mg/kg IM, et à différentes températures. A 35°C, les doses de 10 et 20mg/kg ne procurent qu'une sédation légère et courte, qui ne permet pas d'intuber l'animale. A 20°C, 10mg/kg suffisent pour une sédation et de courtes procédures non invasives. La dose de 20mg/kg, quant à elle, est suffisante pour une intubation, pour de courtes procédures chirurgicales à condition d'y associer des molécules analgésiques, ou pour induire une anesthésie plus longue avec un relais par anesthésie gazeuse (51).

Il est à noter que plus la température est basse par rapport à la température corporelle préférée du reptile, plus le temps de réveil sera prolongé. Au contraire, plus la température sera élevée, et plus la molécule sera métabolisée et éliminée rapidement.

Bilan pour l'induction :

*Pour l'induction de l'anesthésie, la **kétamine**, le **propofol** et l'**alfaxalone** sont des molécules dont l'utilisation est décrite chez la tortue de Floride.*

L'alfaxalone et la kétamine sont les deux seules qui peuvent être administrées par voie intramusculaire, ce qui est l'un des critères qui nous intéressera pour l'étude expérimentale.

c- La maintenance par anesthésiques halogénés

L'anesthésie gazeuse est couramment utilisée chez les reptiles, parfois même pour l'induction (serpents, iguanes). Cependant, elle n'est pas utilisée pour l'induction chez les chéloniens à cause des particularités physiques et physiologiques vue précédemment : reflexe de retrait de la tête, apnées prolongées, shunt cardiaque qui évite la circulation pulmonaire.

Les agents volatils les plus communément utilisés de nos jours chez les reptiles sont l'**isoflurane** et le **sévoflurane**. Ils peuvent être utilisés pour la maintenance de l'anesthésie chez les tortues, après induction avec des anesthésiques injectables et intubation trachéale.
L'intubation permet, entre autres, de contrôler la fréquence respiratoire et le débit d'oxygène, tout en délivrant l'agent anesthésique sous forme gazeuse. La concentration en agent anesthésique peut être réajustée à tout moment pour s'adapter à la profondeur d'anesthésie du patient.

Lors de maintien de l'anesthésie avec un agent volatil tel que l'isoflurane, le stade chirurgical peut nécessiter 1,5 x CAM. La CAM (Concentration Alvéolaire Minimale), chiffre fixe, variant peu en fonction de l'espèce, est la concentration alvéolaire minimale en agent volatil nécessaire pour maintenir l'anesthésie chez 50% des patients, malgré un stimulus supra douloureux. C'est un chiffre obtenu en observant un certain nombre de patients en bonne santé et anesthésiés uniquement par l'agent étudié.

Chez les tortues, la CAM n'a pas pu être déterminée avec précision, tant les effets varient d'un individu à l'autre en fonction du shunt cardiaque, du métabolisme et des apnées. Les valeurs indiquées pour le maintien de l'anesthésie chez la tortue de Floride sont vagues :
Isoflurane : 2-5%
Sévoflurane : 2,5-8%
Le débit d'oxygène doit être de 1 à 3L/min.

La CAM a pu être déterminée chez les tortues en utilisant de l'atropine à la dose de 1mg/kg IV afin d'éliminer le shunt cardiaque R-L. Avec l'atropine, une anesthésie stable était permise avec une CAM de 2,2% d'isoflurane. (27)

Le sévoflurane est plus rapidement éliminé, et les temps d'induction et de récupération sont plus rapides qu'avec l'isoflurane. Son utilisation est cependant peu évaluée chez les tortues car c'est un anesthésique plus coûteux que l'isoflurane.

Bilan pour la maintenance par des agents volatils :

*L'**isoflurane** et le **sévoflurane** sont les agents volatils actuellement utilisés pour la maintenance de l'anesthésie chez les chéloniens, après intubation trachéale.*

Le shunt cardiaque R-L et les apnées ne permettent pas d'obtenir des effets stables avec ces agents.

L'utilisation d'atropine permettrait d'éviter le shunt cardiaque mais a encore peu été étudiée pour le moment.

Actuellement, l'isoflurane est plus utilisé que le sévoflurane. Ce dernier présente des avantages notables mais son coût reste beaucoup plus élevé que celui de l'isoflurane.

d- L'analgésie (résumé en annexe 2)

La douleur, lorsqu'elle n'est pas gérée médicalement, est une source de stress pour l'animal. Ce stress va avoir des effets physiologiques importants et ralentir la cicatrisation. (52) Ces effets du stress et de la douleur sur la cicatrisation ont depuis longtemps été prouvés chez l'homme et les mammifères, mais ne sont pas encore étudiés chez les reptiles, chez qui la perception de la douleur n'a été démontrée que récemment. On peut cependant supposer que des mécanismes similaires existent chez ces animaux.

La douleur entraîne une baisse d'immunité importante. Cette immunosuppression induite par la douleur va avoir des conséquences importantes sur la récupération post-chirurgicale et les risques d'infection. (53)

Le fait que les reptiles perçoivent la douleur, et toutes les conséquences potentielles que la douleur peut engendrer font qu'elle doit impérativement être gérée à l'aide d'agents analgésiques.

De plus, certains agents analgésiques permettent de diminuer la quantité d'agent anesthésique utilisée et donc les effets secondaires de ceux-ci.

i. Les opioïdes

Rappelons que chez les chéloniens, il y a une plus grande implication des récepteurs μ dans la nociception et un rôle mineur des récepteurs κ. Les opioïdes entrainent une importante dépression respiratoire par activation des récepteurs, qui peut être contrebalancée par l'administration d'une molécule alpha-1-adrénergique, la phényléphrine.

Le mécanisme précis n'est pas encore élucidé, mais une étude montre une hausse importante de l'activité respiratoire lorsqu'on administre de la phényléphrine à une tortue de Floride ayant préalablement été prémédiquée avec un opioïde (54). La phényléphrine peut être administrée à la dose de 5 µg/kg IV chez la tortue de Floride.

- Les opioïdes µ-agoniste : la morphine, la méthadone, l'hydromorphone, le tramadol et tapentadol.

  Les opioïdes µ-agoniste, malgré l'importante dépression respiratoire qu'ils provoquent, sont les molécules les plus analgésiques chez les tortues de Floride, ce qui les rend bénéfiques pour ces animaux supportant les apnées longues.

  La **morphine** est un opiacé largement utilisé en médecine humaine pour ses propriétés antalgiques puissantes. Elle agit en se fixant se les récepteurs opiacés mu. Elle peut être administrée par voie IV, IM ou SC. Son efficacité chez la tortue de Floride a été démontrée à plusieurs reprises, et une dose de 1,5mg/kg SC suffit à provoquer un effet antalgique. En contrepartie, la morphine provoque une dépression respiratoire importante, avec une ventilation diminuée de 83+/-9% trois heures après administration de morphine. (55) La durée d'action de la morphine s'étend jusqu'à 24 heures après administration.

  L'**hydromorphone**, un dérivé semi-synthétique de la morphine, peut également être utilisée comme analgésie chez les tortues de Floride à la dose de 0,5mg/kg SC. L'hydromorphone peut être administrée toutes les 12 à 24 heures chez la tortue de Floride, d'après une étude récente (2019) sur la pharmacocinétique de la molécule chez cette espèce (56).

  Le **tramadol** est un agoniste opioïde mu faible et monoaminergique (inhibiteur de la recapture de la noradrénaline et de la sérotonine) dont l'action thérapeutique principale est l'analgésie. Chez la tortue de Floride, il peut être administré par voie orale ou sous-cutanée, à des doses allant de 5 à 25mg/kg. Il procure une bonne analgésie (thermique) et une dépression respiratoire 50% plus faible que la morphine lorsque les doses sont comprises entre 5 et 10mg/kg. Sa durée d'action varie de 12 à 96 heures après administration en fonction de la dose administrée (57). La molécule possède une meilleure efficacité par voie orale, et a une durée d'action prolongée, comparée à la voie SC.

  Le **tapentadol**, tout comme le tramadol, est un agoniste opioïde mu faible et monoaminergique. Cette molécule analgésique récente est utilisée en médecine humaine, et sa pharmacocinétique et ses effets ont été étudiés chez la Trachémyde à ventre jaune (*Trachemys scripta scripta*). Elle procure une bonne analgésie chez cette espèce à la dose de 5mg/kg IM. L'effet est maximal 1 heure après l'injection et diminue progressivement pendant plus de 10 heures. Le tapentadol est encore décelable dans le plasma jusqu'à 24h après administration. Cette molécule encore peu étudiée chez les reptiles semble être une alternative à d'autres opioïdes. (58)

- Autres opioïdes : la **buprénorphine**, le **butorphanol.**

La **buprénorphine** (μ-agoniste partiel) et le **butorphanol** (κ-agoniste et μ-antagoniste) ne diminuent pas significativement le seuil de nociception chez les tortues de Floride. Les études menées montrent une absence d'effet analgésique du butorphanol aux doses de 2,8mg/kg et 28mg/kg. Cette molécule est habituellement administrée à des doses variant de 0,4 à 20mg/kg bien qu'il soit déconseillé de l'administrer à des doses supérieures à 10mg/kg chez les reptiles en raison de la dépression respiratoire induite par la molécule et augmentant avec la dose. La buprénorphine, quant à elle, n'a pas d'effet anti nociceptif chez les tortues de Floride à la dose de 0,2mg/kg SC (59). (Les doses habituellement administrées aux reptiles varient de 0,02 à 1mg/kg selon la littérature)

ii. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Peu d'études sur les effets, l'efficacité et la pharmacocinétique des AINS sont disponibles chez les reptiles. Ils sont utilisés chez les reptiles principalement pour leur effet anti-inflammatoire, et moins fréquemment pour leurs effets antalgiques. Les doses sont souvent extrapolées à partir d'autres espèces.

Une étude menée chez la tortue boîte (*Terrapene carolina carolina*) montre que ces tortues possèdent à la fois des cyclo-oxygénases COX-1 et COX-2 (reins, foie, tissus musculaires sains et tissus musculaires lésés). L'expression des COX-1 est plus importante dans les muscles lésés, ce qui suggère que l'utilisation d'AINS non spécifiques des COX-2 doit être privilégiée (60). Les cyclooxygénases COX-1 et COX-2 étant toutes deux présentes dans le foie et les reins, la toxicité rénale et hépatique des AINS chez les reptiles devrait être évaluée dans des études ultérieures.

Le **méloxicam**, un AINS plus spécifique des COX-2 (uniquement aux doses minimales recommandées) est régulièrement utilisé chez les reptiles. Sa pharmacocinétique a été étudiée chez la tortue de Floride à la dose de 0,2mg/kg IM. Cette étude datant de 2016 met en évidence une longue demi-vie, une biodisponibilité élevée et l'absence d'effets indésirables immédiats avec le méloxicam administré à 0,2 mg/kg IM. Cette étude suggère la possibilité d'une utilisation clinique sûre et efficace chez les tortues, bien que d'autres études soient nécessaires pour établir la fréquence d'administration appropriée et l'efficacité clinique (61).
Une seconde étude comparant la pharmacocinétique du méloxicam selon sa voie d'administration met en évidence une très faible absorption de la molécule par voie orale. Les voies d'administration à privilégier sont la voie intramusculaire et la voie intracœlomique. Les doses plasmatiques à atteindre chez la tortue de Floride pour avoir une efficacité clinique n'ont pas encore été étudiées (62).

Pour le moment, il n'existe pas d'autres études concernant l'administration d'AINS chez les tortues de Floride, et les doses données pour des AINS tels que le kétoprofène ou le carprofène dans l'annexe 2 sont extrapolées d'études chez d'autres reptiles, l'efficacité n'est pas cliniquement prouvée chez la tortue de Floride.

iii. Anesthésiques locaux utilisés pour l'analgésie

Les anesthésiques locaux peuvent être utilisés seuls ou dans le cadre d'une approche multimodale de l'anesthésie. Parmi eux, on peut citer la **lidocaïne**, la **bupivacaïne**, et la **mépivacaïne**.

Ces molécules agissent en bloquant la conduction nerveuse au niveau du canal sodique. Elles empêchent ainsi la conduction du message nerveux nociceptif le long des fibres nerveuses. L'interruption localisée de la transmission du message douloureux jusqu'au cerveau leur confère une action analgésique.

Leur effet sur les canaux sodique en fait des molécules à la toxicité cardiaque importante, qui ne doivent pas être administrées en IV aux doses recommandées pour l'anesthésie locale (voie cutanée, sous cutanées, intradermique). Chez les tortues, la voie intrathécale est également décrite.

La lidocaïne (1 à 2mg/kg) et la bupivacaïne (1 à 2mg/kg) administrées par voie intrathécale sont efficaces chez la tortue de Floride. La bupivacaïne offre une durée d'action plus longue (1 à deux heures) que la lidocaïne (moins d'1 heure). La lidocaïne est souvent utilisée chez les chéloniens en application directe sur des blessures dans le cadre de chirurgies réparatrices. La mépivacaïne a été utilisée de façon plus anecdotique chez l'alligator pour un bloc du nerf mandibulaire.

Finalement, il reste encore de nombreuses études à mener sur l'anesthésie et l'analgésie des tortues, et plus largement des reptiles, et de nombreux points quant à l'efficacité clinique et la pharmacocinétique/pharmacodynamique des molécules restent en suspens.

Bilan sur les molécules analgésiques :

Les molécules analgésiques sont encore peu étudiées chez les chéloniens. Ainsi, il n'existe pas de données fiables quant à l'effet des AINS utilisés chez les tortues de Floride.

Certains opioïdes ont un effet analgésique reconnu chez les reptiles. Selon l'espèce, les molécules n'auront pas les mêmes effets. Chez la tortue de Floride, ce sont les ***opioïdes µ-agonistes*** *qui seront les plus analgésiques.*

*L'anesthésie locale peut également être utilisée chez les chéloniens pour limiter la douleur lors de procédures invasives (****lidocaïne****,* ***bupivacaïne****).*

CONCLUSION – PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Il existe encore de grandes lacunes dans le domaine de l'anesthésie des reptiles, en particulier pour l'anesthésie des tortues qui présentent des particularités physiologiques et anatomiques uniques au sein du règne animal.

Le protocole anesthésique mis en place dans le cadre de la stérilisation des tortues de Floride doit prendre en compte les particularités liées aux chéloniens, et les particularités liées à cette espèce de tortue semi-aquatique.

Le métabolisme des tortues de Floride change en fonction de la température, le système porte-rénal peut impacter l'effet de nombreuses molécules injectées en partie arrière des animaux, l'induction de l'anesthésie par des agents volatils n'est pas possibles chez les tortues de Floride pour diverses raisons (apnées prolongées, shunt cardiaque…).

Toutes ces contraintes orientent le protocole vers une induction de l'anesthésie à l'aide de molécules injectables par voie intramusculaires, en partie antérieure de l'animal.

Les protocoles d'anesthésie dont l'utilisation est la mieux documentée chez les chéloniens sont l'association médétomidine-kétamine et l'alfaxalone. Cependant, les effets (profondeur d'anesthésie, durée d'anesthésie et de réveil) de ces molécules sont très variables selon les études et il n'existe aucun consensus quant aux doses à utiliser, ni d'indication sur les températures d'administration. Ces molécules ont besoin d'être étudiées et comparées dans un contexte précis, identique et reproductible, pour attester de leur efficacité et pour pouvoir recommander un protocole plutôt qu'un autre dans le cadre de stérilisation de tortues de Florides.

Dans l'établissement du protocole sera également incluse l'analgésie, à partir des données bibliographiques précédentes.

PARTIE EXPERIMENTALE

I- Présentation de l'étude.

Cette étude expérimentale a été approuvée par le comité d'éthique animale de Vetagro Sup, enregistrée sous le numéro : 1721.

a- Choix des protocoles étudiés

Pour l'induction, les protocoles dont nous avons cherché à comparer l'efficacité sont les suivants : association médétomidine + kétamine VS alfaxalone. Les protocoles complets sont résumés dans le tableau 1.

Ces deux protocoles ont été sélectionnés parce qu'ils répondent aux diverses contraintes de l'étude :

- Impossibilité d'induire l'anesthésie à l'aide d'un agent volatil
- Existence d'études préalables décrivant l'effet des molécules utilisées et démontrant leur efficacité chez la tortue de Floride
- Protocole simple, réalisable par le plus grand nombre de vétérinaire possible : injections intramusculaires ou sous-cutanées.
- Coût le plus faible possible : procédure réalisée en routine dans certains centres d'accueil de tortues de Floride, sans financement externe, avec un nombre d'interventions annuelles pouvant dépasser 50 stérilisations.

L'association médétomidine - kétamine (protocole MK) :
Il s'agit du protocole d'anesthésie le plus largement décrit chez les reptiles et les chéloniens. Les doses choisies d'après la bibliographie sont 0,2 mg/kg IM pour la médétomidine et 10 mg/kg IM pour la kétamine.
Ce protocole présente l'inconvénient d'induire une dépression cardio-respiratoire importante au cours de l'anesthésie qu'il faut gérer en parallèle de l'intervention.
L'un des avantages de ce protocole est qu'il peut être partiellement réversé, avec l'administration d'atipamézole à la dose de 1mg/kg IM pour antagoniser la médétomidine. Cela pourrait permettre des temps de réveils plus courts que pour d'autres protocoles, et une meilleure récupération post-chirurgicale.

L'alfaxalone (protocole A) :
Elle procure à la fois une anesthésie et une relaxation musculaire chez les reptiles, et son efficacité chez la tortue de Floride a été démontrée dans une étude réalisée en 2013 (51), à la dose de 20mg/kg et à une température de 20°C, pour des interventions chirurgicales de courte durée (20 minutes).
Contrairement au protocole précédent, ses effets indésirables sur l'appareil cardio-respiratoire sont moindres. On peut toutefois relever des inconvénients majeurs comme l'important volume nécessaire aux doses requises pour les reptiles et son coût élevé. De plus, cette molécule n'est pas antagonisable et ne possède pas de valence analgésique, contrairement à la médétomidine.

L'analgésie a été couverte avec l'administration de morphine à la dose de 1,5mg/kg SC. Cette molécule induit une importante dépression respiratoire qui sera compensée par une ventilation artificielle en cours de procédure. (63)
En complément de la morphine, il a été décidé d'ajouter une anesthésie locale. Une injection de bupivacaïne à la dose de 2mg/kg a été réalisée le long du site d'incision (fosse préfémorale) dès la relaxation musculaire de la tortue anesthésiée.

Tableau I : Description des deux protocoles comparés dans l'étude expérimentale.

	Protocole A	**Protocole MK**
Analgésie/prémédication	**Morphine** 1,5mg/kg SC - deux heures avant l'induction	
Anesthésie locale	**Bupivacaïne** 2mg/kg SC - fosse préfémorale le long du site d'incision – dès relaxation musculaire	
Induction	**Alfaxalone** 20mg/kg IM	**Médétomidine** 0,2 mg/kg IM **Kétamine** 10 mg/kg IM
Maintenance	**Isoflurane 3% dans 100% O2** - ajusté selon le score d'anesthésie	
Antagonisation		**Atipamézole** 1mg/kg IM à la fin de la chirurgie

b- Objectif de l'étude et hypothèses sur les résultats

Cette étude a été menée chez des tortues de Florides subissant une stérilisation chirurgicale - oophorectomie - dans le but de comparer les effets de l'alfaxalone et de l'association médétomidine-kétamine sur la durée et la qualité de l'induction et de l'anesthésie, la stabilité cardiovasculaire, l'effet analgésique, et la récupération post chirurgicale.

Des grilles d'évaluation de la nociception et de la profondeur de l'anesthésie ont été utilisées durant la procédure chirurgicale.

Une étude datant de 2001 démontre l'efficacité de l'association médétomidine et kétamine pour l'anesthésie de tortues de Florides. (43) Dans cette étude, la dose de 10mg/kg de kétamine et 0,2mg/kg de médétomidine (dose choisie pour le protocole de notre étude) est administrée à 28° ± 1°C. Les tortues ont alors une fréquence cardiaque stable autour de 18 mouvements par minutes, et le réflexe palpébral diminue progressivement entre 15 et 75 minutes après l'induction.

L'incision cutanée est pratiquée sans réaction à T+50 minutes sur les individus de l'étude ayant reçu cette dose. Les tortues reçoivent une dose d'atipamézole à T+60 minutes pour la réversion de l'anesthésie et se réveillent toutes entre 30 et 60 minutes après l'injection. A T+120 minutes, toutes les tortues sont remises à l'eau et complétement réveillées de l'anesthésie.

Une étude a également été publiée sur l'utilisation de l'alfaxalone aux doses choisies. (51) A la dose de 20mg/kg, avec une température ambiante de 20°C, les tortues de l'étude mettent 19+/-6 minutes à atteindre la profondeur d'anesthésie maximale. Le réveil d'anesthésie se fait à 126+/-17 minutes post induction. La fréquence cardiaque avec ce protocole est d'environ 30 battements par minute.

Ces études préliminaires sont réalisées à des températures très différentes, il n'est donc pas possible de comparer l'effet de ces deux protocoles. Cependant, il est possible de supposer que l'induction sera plus rapide avec l'alfaxalone qu'avec l'association médétomidine kétamine, puisque le temps d'induction augmente généralement quand la température diminue. En revanche, il n'est pas possible d'émettre d'hypothèse quant à la durée de réveil, car le réveil est plus court avec l'association médétomidine-kétamine, à une température plus élevée. Il est probable que le réveil aurait été prolongé à une température de 20°C.

c- Conditions de déroulement de l'étude

Conditions préopératoires :

Les tortues participant à cette étude vivent dans le bassin romantique du jardin zoologique de Mulhouse depuis plus d'un mois. Les individus potentiellement éligibles pour l'étude sont retirés du bassin 48h avant l'intervention chirurgicale et placés dans un bac individuel d'acclimatation à une température de 23°C. Une période de jeûne de 24h est respectée avant l'opération de stérilisation, et les tortues sont examinées afin d'être incluses ou non dans l'étude. Les différents examens sont réalisés par un même opérateur, ainsi que les différentes injections. Ces dernières sont effectuées à l'identique pour chaque molécule.

Conditions opératoires :

La température de la pièce où se déroule l'intervention est maintenue à 23°C. Les tortues sont placées sur un tapis chauffant permettant d'adapter la température si jamais celle-ci chute ou n'est pas stable en cours d'intervention. Un opérateur pratique la chirurgie (oophorectomie) pendant qu'un anesthésiste (toujours identique) recueille les données pour l'étude, tout en vérifiant les réflexes du patient, en adaptant la quantité d'isoflurane en fonction des données recueillies et en maintenant une respiration artificielle à l'aide d'un ballon.

Conditions post-opératoires

Au moment du réveil, les tortues sont placées dans une grande caisse sans eau, dans la salle où se trouvent les bacs d'acclimatation, et une soufflerie à air pulsé (WarmTouch) est placée devant elles afin d'augmenter leur température corporelle et d'accélérer la phase de réveil. Lorsqu'elles sont complétement réveillées, elles sont replacées dans des bacs contenant de l'eau, observées jusqu'à 48h post-opératoires, puis relâchées dans un étang (différent du bassin initial) où se trouvent toutes les tortues stérilisées.

II- Matériel et méthodes

a- Les animaux

Quarante-trois tortues de Floride (Trachemys *scripta scripta*, *Trachemys scripta elegans*, *Trachemys scripta troostii* ou tortues hybrides) du jardin zoologique et botanique de Mulhouse en attente d'une ovariectomie ont été incluses dans l'étude.

i. Critères d'inclusion dans l'étude

- Tortue appartenant à l'une des sous-espèces suivantes : *Trachemys scripta elegans*, *Trachemys scripta scripta*, *Trachemys scripta troostii*, ou une hybride de ces sous-espèces. Les tortues incluses dans l'étude étant des animaux abandonnés et/ou trouvés dans la nature, il a été nécessaire d'inclure toutes les sous-espèces et hybrides dans l'étude afin d'obtenir un nombre d'individu plus conséquent. Ce choix semble pertinent puisque dans l'objectif de limiter la prolifération des tortues dites « de Floride », l'ovariectomie et par conséquent l'anesthésie concerne toutes ces sous-espèces souvent relâchées dans la nature et récupérées par des centres d'accueil.

- Tortue femelle (confirmé par cystoscopie au début de chaque intervention, sous anesthésie générale)

- Tortue pesant plus de 800g. Pour des raisons pratiques, il a été décidé d'écarter de l'étude les tortues pesant moins de 800g, qui seront stérilisée ultérieurement. Les tortues de taille inférieure nécessitant des doses anesthésiques plus élevées, ce qui est une raison supplémentaire de les écarter de l'étude, afin de réduire les écarts de poids entre les individus sélectionnés.

- Tortue vivant depuis plus d'un mois dans le bassin romantique du jardin zoologique et botanique de Mulhouse.

- Tortue en bonne santé (cf : Examen clinique et examens complémentaires)

ii. Examen clinique et examens complémentaires

Les tortues ont été pêchées dans le bassin romantique. Elles ont alors été amenées à la clinique vétérinaire afin d'être examinées et de subir quelques examens complémentaires pour déterminer si elles pouvaient ou non être incluses dans l'étude.

Tout d'abord, les tortues ont été pesées, et celles dont le poids était inférieur à 800g ont été relâchées dans le bassin romantique.

Ensuite, un examen clinique a été réalisé :

- **Évaluation de l'état corporel de chaque individu.**
  L'évaluation de l'état corporel d'un chélonien n'est pas aisée puisque le corps est enveloppé d'une carapace. Cependant, des scores ont été établis pour certaines espèces de tortues terrestres - *Gopherus agassizii,* (64) - , aquatiques - *Pelomedusa subrufa* et *Pelusios castaneus* (65)- ou marine - *Chelonia mydas* (66)-. Les critères utilisés pour ces scores ont permis d'évaluer approximativement l'état d'embonpoint des tortues, et d'écarter de l'étude celles en état de maigreur ou d'obésité.

  Les critères observés étaient les suivants :

  - Présence d'une crête sagittale visible ou palpable (signe de maigreur)
  - Muscles temporaux développés (bonne santé)
  - Atrophie des muscles des membres (signe de maigreur)
  - Présence de graisse sous-cutanée dans la fosse préfémorale, sur les membres, à la base de la queue (bonne santé, sauf si excès)
  - Profondeur de rétraction des membres dans la carapace.
  - Profondeur des globes oculaires (enfoncés chez des tortues maigres suite à la fonte de la graisse sous orbitale).

- **Evaluation de l'état d'hydratation de l'animal.**
  En cas de déshydratation, l'animal présente des plis de peau très persistants, des muqueuses plus sèches et des filaments de mucus dans la cavité orale.

- **Evaluation de l'état de la carapace.**
  - Absence de traumatisme
  - Carapace vert sombre, et plastron jaune clair, non craquelés.
  - Absence de colorations rouge ou rosées, de plages de décolorations, et de plages blanches cotonneuses (mycose).(67)

- **Evaluation de l'appareil respiratoire.**
  Absence de jetage, de sifflements, fréquence respiratoire comprise entre 8 et 20 mouvements par minutes. (68) Un examen radiographique a été réalisé pour compléter ces observations et confirmer l'absence d'atteinte respiratoire.

- **Examen de la cavité buccale.**
  Absence d'ulcères, de zones de nécrose, de corps étranger. Couleurs des muqueuses bien roses : absence d'anémie sévère (69).

- **Absence d'affections oculaires**, d'abcès, de plaies ou toute autre anomalie.

- **Palpation abdominale**.
  Pour vérifier l'absence de douleur, et l'absence de dystocie. L'examen radiographique permettait également d'objectiver une éventuellement dystocie.

- **Estimation du sexe** de l'individu par des critères morphologiques : il existe un dimorphisme sexuel chez les tortues de Floride. Le mâle et la femelle peuvent être différenciés grâce aux caractéristiques suivantes :

- Les griffes : celles du mâle sont plus longues et courbées que celles de la femelle.
- La forme du plastron : comme chez de nombreuses espèces de chéloniens, le plastron de la femelle est plat à convexe, tandis que celui du mâle est plutôt concave.
- La queue est plus longue et le cloaque est plus distal chez le mâle
- La taille : les individus femelles atteignent des tailles plus élevées que les mâles.

Chez les tortues juvéniles, il n'est cependant pas possible de distinguer les deux sexes, les différences morphologiques deviennent plus prononcées à partir de la puberté et s'accentuent au fil du temps.

- **Clichés radiographiques** : examen complémentaire permettant de vérifier l'absence de dystocie, de corps étranger radio-opaque, de masse, de pathologie respiratoire, de fractures.

- **Cystoscopie (figure 12)** : examen complémentaire de choix et de certitude pour confirmer le sexe des individus. C'est une technique non invasive qui permet de visualiser les organes génitaux en passant par les voies naturelles (70).

  Un endoscope est introduit dans le cloaque, et dirigé le long de l'urètre jusqu'à la vessie. A travers la paroi vésicale, les organes génitaux sont facilement visualisables.

Cet examen a été effectué sous anesthésie générale, au tout début de l'intervention, sur les animaux préalablement « inclus » dans l'étude, remplissant tous les critères et supposés être des femelles, afin de confirmer leur sexe et de les inclure définitivement dans l'étude. Il permet également de mettre en évidence des dystocies.

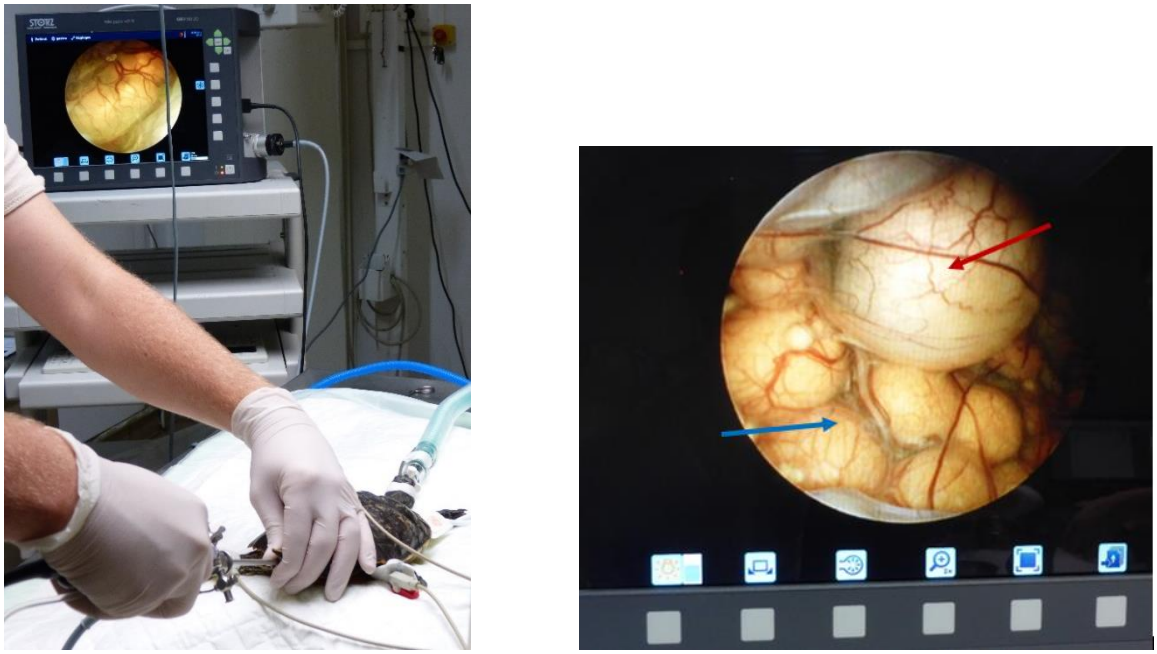

Figure 12: Cystoscopie d'une tortue de Floride femelle. A gauche, on observe une grappe ovarienne (flèche bleue), qui permet de confirmer qu'il s'agit d'un individu femelle, et un œuf calcifié (flèche rouge) attestant d'une dystocie. © Laurène Gantner

iii. Critères d'exclusion de l'étude.

- Poids inférieur à 800g
- Mâle
- Tortue maigre ou obèse
- Dystocie
- Présence d'une pathologie évidente (jetage nasale, otite, ulcères buccaux)
- Toute autre anomalie à l'examen clinique ou radiographique

Figure 13 : Exemples d'individus exclus de l'étude. © Laurène Gantner

iv. Répartition dans les groupes

Des numéros ont été attribués aux 43 tortues incluses dans l'étude. Elles ont été marquées à l'aide de vernis sur la carapace, bleue pour les unités et rouge pour les dizaines. Les écailles ont été utilisées comme un cadran dans le sens horaire, la première écaille étant l'écaille vertébrale crâniale (figure 14).

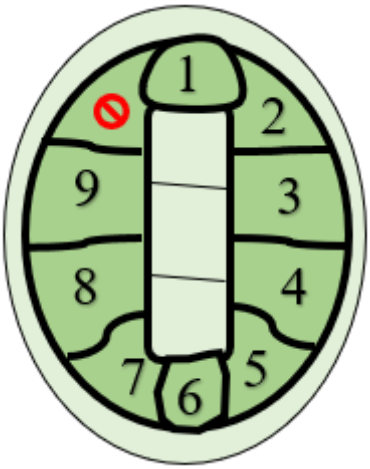

Figure 14: Système d'identification des individus par application de vernis sur les écailles. Schéma : Laurène Gantner.

Les tortues ont été réparties aléatoirement en deux groupes grâce à un tirage au sort manuel, réalisé par une personne étrangère à l'étude :

- Groupe A (n=20) : induction avec 20mg/kg d'alfaxalone.

- Groupe MK (n=23) : induction avec 0,2mg/kg de médétomidine et 10mg/kg de kétamine.

b- Evaluation de la douleur et de la profondeur de l'anesthésie : grilles de scores.

i. Evaluation de la profondeur d'anesthésie et établissement d'un score.

Le concept de profondeur d'anesthésie a été introduit par John Snow, en 1847. Il décrivait alors 5 stades de narcose. A l'époque, il fallait réduire la morbidité et la mortalité associées à une anesthésie trop profonde. Par la suite, avec l'introduction de curares pour la myorelaxation, il fallait également pouvoir estimer la profondeur de l'anesthésie pour que cette dernière ne soit pas trop légère non plus, et éviter des cas de patients conscients et seulement immobilisés. L'évaluation de la profondeur de l'anesthésie se fait à partir de signes cliniques évaluables au cours de la procédure. (71)

Chez les chéloniens, la profondeur de l'anesthésie peut être évaluée par différents signes cliniques ou réflexes, qui disparaissent au fur et à mesure que l'anesthésie devient plus profonde. Dans leur ordre théorique de disparition, ces signes permettant d'évaluer la profondeur de l'anesthésie sont :

- **Le réflexe de retournement** : lorsqu'une tortue est placée sur le dos, elle cherchera à se replacer dans un sens physiologique en agitant ses membres pour basculer. Ce réflexe est l'un des premiers à disparaître, y compris avec une sédation légère, il n'a donc pas été utilisé pour évaluer la profondeur de l'anesthésie puisqu'il était systématiquement absent chez les individus de l'étude, préalablement prémédiqués avec de la morphine.

- **Le réflexe de retrait de la tête** : Lorsque l'on s'approche de leur tête, qu'on la tire vers l'extérieur, les chéloniens cryptodires (dont font partie les tortues de Floride) ont le réflexe de rentrer leur tête dans la carapace en rétractant leur cou. On parle de chéloniens « cryptodires » car ils peuvent rétracter leur tête en conservant l'orientation de celle-ci, par opposition aux pleurodires qui ne rétractent pas leur tête mais doivent plier leur cou pour ranger leur tête sur le côté de leur carapace. C'est ce réflexe qui rend l'induction au masque délicate, en plus des longues apnées dont les chéloniens sont capables. Ce réflexe disparaît dès les premiers stades d'anesthésie, puis, peu de temps après, les muscles du cou se relâchent, et la tête tombe vers l'avant si l'on penche l'animal.

- **Le réflexe laryngé** : disparaît peu de temps après le tonus musculaire du cou. L'intubation est alors possible.

- **Le réflexe de retrait du membre au pincement de l'extrémité de celui-ci** : lorsque l'on attrape un membre (orteil) d'un chélonien avec ses doigts ou une pince mousse et que l'on tire légèrement dessus, l'animal va rétracter la partie sollicitée sous sa carapace, pour se protéger. Ce réflexe doit avoir disparu lors d'une anesthésie à visée chirurgicale.

- **Le réflexe cloacal** : lorsque l'on pince délicatement le cloaque d'une tortue, celle-ci remue la queue pour se libérer de la prise. Cette réaction disparaît seulement à un stade avancé d'anesthésie.

- **Le réflexe palpébral** : l'œil cligne ou la paupière se ferme lorsque l'on touche le canthus interne. Ce réflexe de protection disparaît lorsque l'anesthésie est très profonde.

- **Le réflexe cornéen** : L'œil cligne ou se ferme lorsque l'on touche la cornée. La disparition de ce réflexe est synonyme d'anesthésie trop profonde.

Pour le suivi de la profondeur d'anesthésie, une grille d'évaluation a été établie à l'aide de scores dichotomiques, prenant en compte un certain nombre de « descripteurs », c'est à dire de signes cliniques évaluables tout au cours de la procédure.

Les signes cliniques utilisés pour établir le score étaient les suivants : le réflexe de retrait de la tête, le tonus musculaire du cou, les mouvements spontanés des membres sans stimuli douloureux, le retrait du membre au pincement, le réflexe palpébral et le réflexe cornéen.

Descripteur :	Score
Reflexe de retrait de la tête	Présent : +5 Absent : 0
Tonus musculaire du cou	Présent : +5 Absent : 0
Mouvements spontanés des membres	Présent : +5 Absent : 0
Reflexe de retrait du membre au pincement	Présent : +3 Absent : 0
Reflexe palpébral	Présent : +1 Absent : 0
Reflexe cornéen	Présent : +1 Absent : 0

Un score compris entre deux et trois indique une profondeur d'anesthésie adéquate pour effectuer un acte chirurgical.

Un score strictement inférieur à deux indique une anesthésie trop profonde. Un score supérieur à trois indique une anesthésie insuffisante pour effectuer une procédure invasive.

Si le score était trop élevé, alors le pourcentage d'isoflurane était augmenté de +0,5% jusqu'à stabilisation du patient. Si le score était inférieur à deux, le pourcentage d'isoflurane était diminué progressivement de -0,5% jusqu'à stabilisation du patient.

Tant que la profondeur de l'anesthésie était jugée adéquate grâce à la grille d'évaluation, le pourcentage d'isoflurane demeurait inchangé.

ii. Le score de nociception.

Les reptiles possèdent les structures physiologiques et anatomiques nécessaires pour détecter et percevoir la douleur. Ils sont capables de montrer des comportements liés à celle-ci, et des réactions d'inconfort face à des stimuli douloureux. Comme nous l'avons vu précédemment, la plupart de la littérature disponible au sujet de l'analgésie chez les reptiles indique qu'ils possèdent un nombre important de récepteurs opioïdes µ-agonistes, et qu'ils ont une sensibilité importante au niveau de la peau (incisions cutanées, nociception thermique etc.) (72)

Une analgésie multimodale est donc à envisager lors de toute procédure invasive chez les chéloniens. De plus, afin d'assurer le bien-être des animaux au cours de la procédure, il est important de pouvoir évaluer la douleur de l'animal et l'efficacité de l'analgésie en cours d'opération. Nous avons voulu comparer la nociception en cours de procédure avec les deux protocoles d'anesthésie utilisés. En effet, la kétamine et la médétomidine sont deux molécules possédant des propriétés analgésiques, tandis que l'alfaxalone procure une analgésie extrêmement limitée.

Pour cela, nous avons établi un score de nociception basé sur les critères suivant (73):

- **Reflexe de retrait du membre au pincement profond** : lorsque l'animal est profondément anesthésié, si la nociception est encore présente, il présentera un réflexe de retrait au pincement profond de l'extrémité de ses membres avec une pince mousse.

- **Reflexe au pincement profond de la queue** : De même que pour le pincement profond de l'extrémité des membres, il existe un réflexe au niveau de la queue si la nociception est présente, les tortues vont rétracter leur queue ou agiter les membres (généralement postérieurs) pour tenter de se soustraire au stimulus douloureux.

- **Reflexe cloacal** : Le réflexe de contraction du sphincter du cloaque doit avoir disparu à la stimulation de celui-ci lorsque l'analgésie est suffisante.

- **Mouvements des membres** lors de stimuli douloureux : une tortue, même anesthésiée, peut présenter des mouvements de pédalage au niveau de ses membres en présence d'un stimulus douloureux (incision chirurgicale, ligature de la grappe ovarienne, sutures cutanées.). Ces mouvements devront être absents avec une analgésie adéquate.

- **Tachycardie** : la fréquence cardiaque des chéloniens va croître en présence d'un stimulus douloureux lorsqu'il reste de la nociception. Chez les reptiles, la fréquence cardiaque peut être évaluée à l'aide d'un doppler ou d'un électrocardiogramme.

Pour le suivi de la nociception, tout comme pour le suivi de la profondeur d'anesthésie, une grille d'évaluation a été établie à l'aide de scores dichotomiques, prenant en compte un certain nombre de descripteurs.

Les signes cliniques utilisés pour établir le score de nociception sont les suivants : le réflexe de retrait du membre au pincement profond, le réflexe au pincement profond de la queue, le réflexe cloacal, les mouvements des membres lors de stimuli douloureux, l'augmentation de la fréquence cardiaque.

Descripteur :	Score
Reflexe de retrait du membre au pincement profond	Présent : +3 Absent : 0
Reflexe au pincement profond de la queue :	Présent : +3 Absent : 0
Reflexe cloacal :	Présent : +3 Absent : 0
Mouvements des membres lors de stimuli douloureux	Présent : +5 Absent : 0
Tachycardie	>5 bpm : +1 >10 bpm +2 Absent : 0

Un score compris entre trois (inclus) et cinq (exclus) indique qu'une certaine nociception est encore présente, mais suffisamment atténuée pour permettre un acte chirurgical.

Un score supérieur ou égal à 5 indique que l'analgésie est insuffisante pour effectuer une procédure invasive.

Le score de nociception n'influe pas sur les molécules analgésiques données aux individus.

La morphine ayant une durée d'action très longue chez les tortues de Floride (effet analgésique durant jusqu'à 24h après l'injection sous cutanée, avec un effet maximal 8h après l'injection (55)), son effet couvre toute la durée de l'opération.

Le score sert avant tout à évaluer si, malgré l'analgésie multimodale, une différence de nociception liée aux molécules anesthésiques est encore présente.

c- Protocole expérimental – Study design (figure 15).

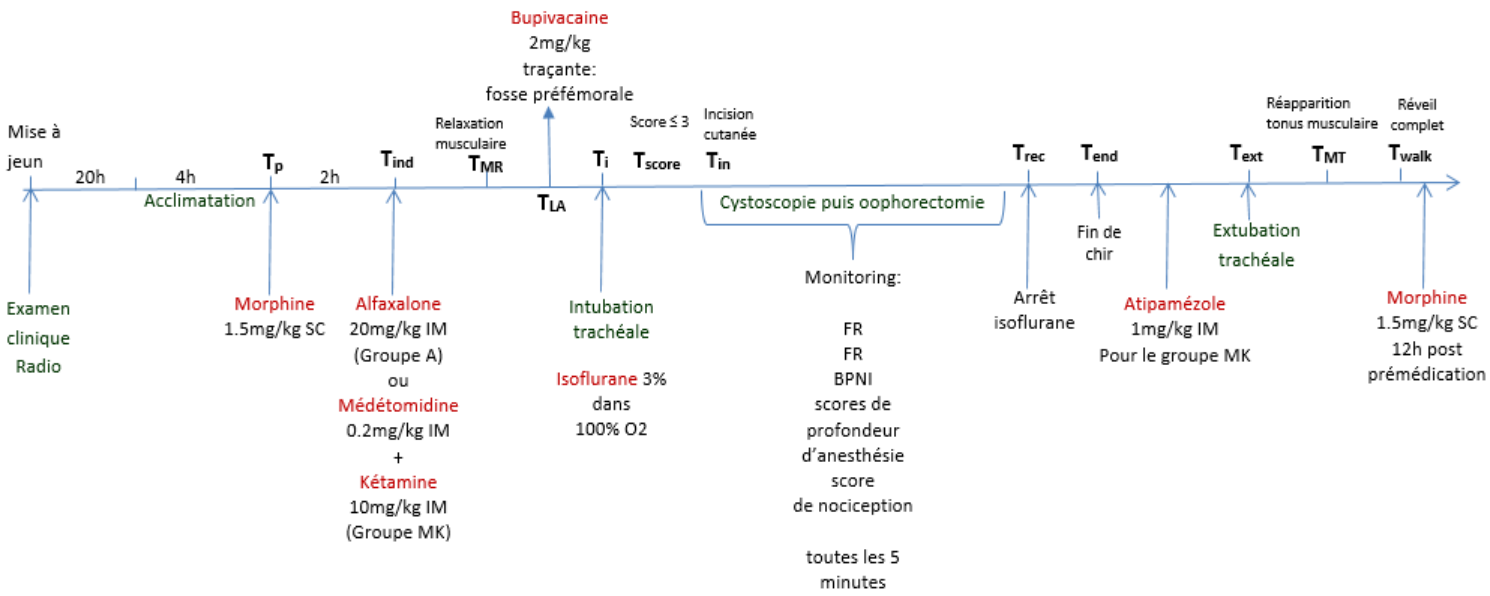

Figure 15: Study design – déroulement chronologique de l'étude expérimentale.

i. Temps préopératoire et prémédication

Les tortues sélectionnées pour l'étude ont été mises à jeun 24 heures avant l'intervention chirurgicale pour éviter toute complication digestive lors de l'anesthésie (régurgitation, stase…). Pour cela, elles ont été placées dans des bacs individuels contenant 10cm d'eau, et acclimatées 12 heures avant l'opération à la température choisie, appropriée à l'espèce (entre 22 et 30°C) et à l'anesthésie, soit 23°C dans notre cas.

Quel que soit le protocole qui leur a été attribué (A ou MK), les tortues ont été prémédiquées avec une injection sous cutanée de morphine à la dose de 1,5mg/kg. L'injection a été réalisée deux heures avant l'induction, à la base du membre antérieur droit, chez tous les individus. Par la suite, une sédation légère a été observée chez l'ensemble des tortues (moins de tentatives de morsures à la manipulation), ainsi qu'une baisse de la fréquence respiratoire.

ii. Induction – Temps opératoire et entretien de l'anesthésie

Deux heures après la prémédication les tortues du groupe A étaient induite avec de l'alfaxalone à la dose de 20mg/kg injectée par voie intramusculaire dans les membres antérieurs. Comme le volume était important, il était réparti sur les deux membres.

Les tortues du groupe MK étaient induites avec une injection de médétomidine à la dose de 0,2mg/kg et de kétamine à la dose de 10mg/kg par voie intramusculaire dans les membres antérieurs également (figure 16). L'injection de l'anesthésique correspond au « T0 » de l'étude et le monitoring débute à ce moment-là.

Les données pour le monitoring étaient recueillies toutes les 5 minutes de l'induction jusqu'à la fin de la chirurgie. Après la fin de la chirurgie, seuls des temps caractéristiques (réveil, retour du tonus musculaire du cou, des membres.) étaient relevés.

Figure 16: Injection intramusculaire d'une molécule anesthésique dans le membre antérieur gauche d'une Trachémyde. © Laurène Gantner

Les tortues étaient placées en décubitus ventral sur la table d'opération, sur une alèse reposant sur un tapis chauffant. Un coussin en microbilles à mémoire de forme était également utilisé pour le positionnement de l'animal en décubitus latéral au cours de la chirurgie.

De la bupivacaïne était administrée aux tortues des deux groupes peu après l'induction de l'anesthésie, à la dose de 2mg/kg, en guise d'anesthésie locale (figure17). Elle était injectée en sous-cutanée le long du site d'incision dans la fosse préfémorale. La relaxation musculaire des membres postérieurs à la suite de l'induction facilitait cette manipulation.

Figure 17: Injection de bupivacaïne en SC. dans la fosse préfémorale droite d'une tortue de Floride. © Laurène Gantner

Les tortues, dès que la relaxation musculaire le permettait, étaient intubées. Tout d'abord, la mâchoire était ouverte à l'aide d'un porte aiguille ou d'un clamp pour visualiser la trachée. De la lidocaïne en spray était pulvérisée à l'entrée de celle-ci. Par la suite, un cathéter de 14 gauge et 45mm de longueur était introduit dans la trachée et fixé à la tête de l'animal (figure 18).

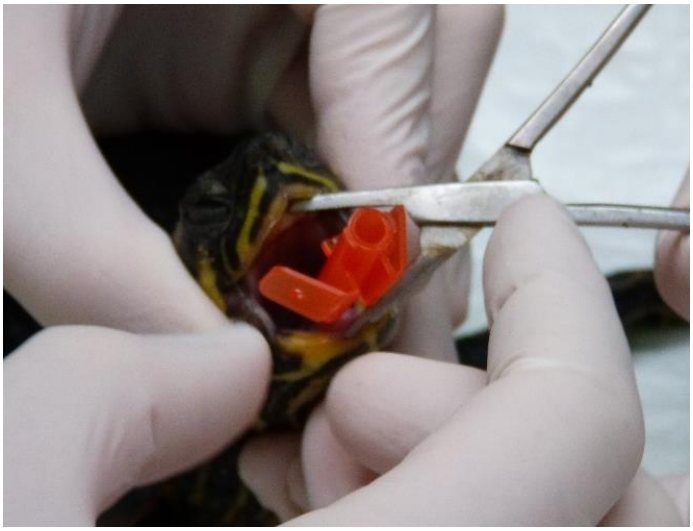

Figure 18: Intubation d'une tortue de Floride avec un cathéter 14G. © Laurène Gantner

L'animal était alors relié au circuit d'anesthésie gazeuse, et recevait de l'isoflurane dans 100% de dioxygène. L'isoflurane était délivré à 3% par défaut pour la maintenance et réajusté toutes les 5 minutes en fonction du score d'anesthésie.

La première manipulation effectuée était la cystoscopie, préalable à tout autre acte, pour confirmer le sexe de l'individu.

Dès que le score de profondeur d'anesthésie diminuait en dessous de trois, la chirurgie pouvait commencer, simultanément au monitoring. Une personne unique a effectué tous les monitorings anesthésiques de l'étude en double aveugle, sans connaître les protocoles d'induction du patient.

De l'Ocrygel® était régulièrement appliqué sur la cornée des animaux pour éviter l'apparition d'ulcères.

A la fin de la chirurgie, une injection d'atipamézole à la dose de 1mg/kg (5 fois la dose de médétomidine) était administrée par voie intramusculaire dans un membre antérieur aux tortues du groupe MK, pour reverser l'anesthésie.

iii. Monitoring et surveillance per-opératoire

Les données de monitoring étaient toutes inscrites sur une feuille attitrée au patient, ainsi que les éventuels commentaires en cours d'anesthésie. Cette feuille est disponible en annexe 4.

Toutes les cinq minutes, le réflexe de retrait de la tête, le tonus musculaire du cou, les mouvements spontanés des membres sans stimuli douloureux, le retrait du membre au pincement, le réflexe palpébral et le réflexe cornéen étaient vérifiés afin d'établir le score de profondeur d'anesthésie. Le réflexe de retrait du membre au pincement profond, le réflexe au pincement profond de la queue, le réflexe cloacal, les mouvements des membres lors de stimuli douloureux, l'augmentation de la fréquence cardiaque étaient vérifiés afin d'établir le score de nociception.

Parallèlement à l'intubation, des patchs ECG étaient placés sur les membres de l'animal ainsi qu'un brassard de pression, reliés à un électrocardiogramme, afin d'obtenir une fréquence cardiaque et des valeurs de pression artérielle et systolique.

Une sonde de température œsophagienne était également insérée et fixée dès que l'anesthésie gazeuse était mise en place, afin de contrôler la température corporelle interne du patient au cours de la procédure et de la maintenir stable (autour de 23°C) à l'aide du tapis chauffant.

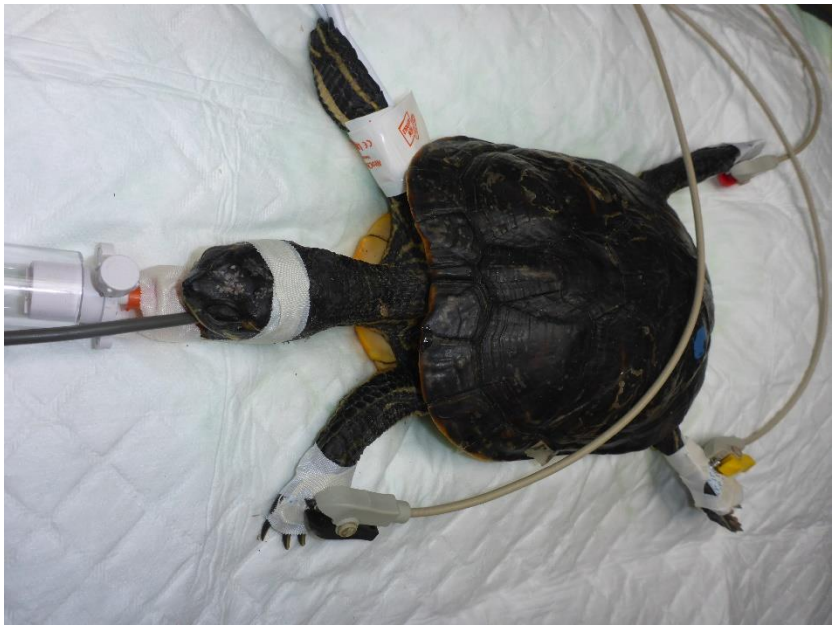

Figure 19: Tortue de Floride sous anesthésie gazeuse, avec monitoring. © Benoît Quintard

Au cours de l'étude, un certain nombre de temps caractéristiques étaient relevés :

T_P = prémédication avec de la morphine

T_0 = induction avec de l'alfaxalone ou médétomidine + kétamine selon le protocole

$\mathbf{T_{LA}}$ = anesthésie locale avec de la bupivacaïne

$\mathbf{T_{MR}}$ = relaxation musculaire des membres

$\mathbf{T_{i}}$ = intubation endotrachéale (relaxation des muscles du cou, de la mâchoire, et du larynx)

$\mathbf{T_{score}}$ = premier temps où le score de profondeur d'anesthésie devient inférieur à trois

$\mathbf{T_{in}}$ = incision cutanée, début de chirurgie

$\mathbf{T_{5}}$, $\mathbf{T_{10}}$, $\mathbf{T_{15}}$ … : monitoring classique des fonctions vitales et des différents réflexes toutes les cinq minutes jusqu'à la fin de la chirurgie.

$\mathbf{T_{end}}$ = fin de chirurgie, arrêt de l'isoflurane s'il n'était pas déjà à 0, administration d'atipamézole pour le groupe MK.

$\mathbf{T_{ext}}$ = premiers mouvements volontaires de la tête, extubation

$\mathbf{T_{MT}}$ = retour du tonus musculaire des membres

$\mathbf{T_{walk}}$ = déplacement, récupération complète et retour à la normale après l'anesthésie.

iv. Surveillance post-opératoire

Après la chirurgie, les tortues étaient placées dans une « salle de réveil », avec une soufflerie à air pulsé Warmtouch® afin d'élever légèrement la température corporelle et d'accélérer le réveil. Les temps caractéristiques étaient relevés jusqu'au réveil complet (**T_{walk}**) puis les tortues étaient à nouveau placées dans des bacs avec de l'eau, et surveillées encore 48 heures minimum.

Les signes évocateurs d'une douleur post-chirurgicale qui étaient recherchés étaient les suivants :

- Yeux mi-clos ou clos
- Immobilité, prostration ou au contraire agitation → signes d'inconfort
- Faiblesse
- Boiteries, réticence à se déplacer
- Agressivité, tentatives de morsure
- Anorexie
- Diminution des interactions

Si une tortue montrait des signes évoquant de la douleur liée à l'intervention chirurgicale, de la morphine était donnée 12 heures après la prémédication, puis toutes les 12 heures jusqu'à disparition de la douleur.

Si une tortue présentait des signes de récupération anormale ou de douleur au-delà de 48 heures, elle était gardée sous observation jusqu'à retour à la normale.

Les tortues étaient relâchées dans l'étang après 48h d'observation si aucun signe de douleur ou de complication n'était observé.

d- Statistiques

Les données ont toutes été saisies dans le logiciel Excel. Des tableaux ont été créés afin de pouvoir exploiter ces données sous Rstudio. (Exemple en annexe 5)
La normalité de la distribution au sein des échantillons a été testée à l'aide d'un test de Shapiro-Wilk.
Les différences étaient considérées comme étant significatives lorsque $p<0,05$.

i. Temps caractéristiques

Les temps caractéristiques (Temps de relaxation musculaire $\mathbf{T_{MR}}$, Temps de l'intubation endotrachéale $\mathbf{T_i}$, etc…) sont tout d'abord présentés avec des statistiques descriptives. Ensuite, la comparaison entre les deux protocoles a été réalisée grâce à une transformation logarithmique des temps caractéristiques dans le but de s'approcher d'une distribution normale.

Afin de vérifier la pertinence de la transformation logarithmique, des diagrammes quantile-quantile ont été tracés. (Figure 20)

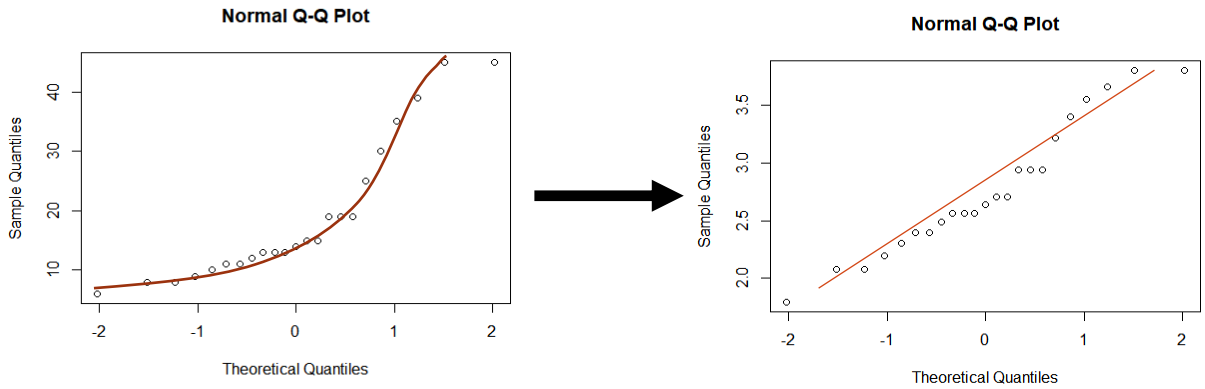

Figure 20: Diagramme quantile-quantile, transformation logarithmique des temps, approximation d'une loi normale, exemple avec le temps de relaxation musculaire T_{MR}. Source : Laurène Gantner.

Les données en log ont été représentées à l'aide de diagrammes en boîte. Ces diagrammes ont permis de confirmer que les variances des temps en log étaient proches et donnent une bonne vision de la distribution.

Les résultats et valeurs p-prédictives ont alors été obtenus à l'aide d'un t-test.

Une régression linéaire a été réalisée sur le logarithme des temps, et les coefficients de la régression ont pu être comparés entre les deux protocoles, après une transformation des logarithmes de temps vers des temps en minutes grâce à la fonction exponentielle. (Cf script R en annexe 6 et 7, exemple avec $\mathbf{T_{MR}}$)

ii. Scores d'anesthésie et d'analgésie

Les scores de profondeur d'anesthésie et d'analgésie (nociception) ont été analysés à l'aide d'une ANOVA avec mesures répétées et un test DSH de Tukey avec correction de Bonferroni. Un t-test temps par temps a également été effectué.

iii. Fréquence cardiaque

Les fréquences cardiaques ont été analysées à l'aide d'une ANOVA avec mesures répétées et un test DSH de Tukey avec correction de Bonferroni.
Un t-test temps par temps a également été effectué.

III- Résultats

a- Les tortues incluses dans l'étude

Quarante-trois tortues de Floride femelles (sur un total de 83) ont rempli les critères d'inclusion, et ne présentaient pas de critères d'exclusion. Elles ont pu être incluses dans l'étude préalablement à la chirurgie.
Sur les 40 tortues écartées de l'étude, 9 pesaient moins de 800g, 4 présentaient une dystocie, 3 des problèmes respiratoires et les 24 restantes présentaient des anomalies visuelles à l'examen clinique (plaies, lésions cutanées ou de la carapace, abcès de l'oreille).

Le groupe A comprenait 20 individus, et le groupe MK en comprenait 23.

Le poids des tortues est de 1,75 +/- 0.4 kg en moyenne dans chaque groupe. Il est homogène et comparable entre les deux groupes, et varie entre 1,1kg et 2,69kg. (Figure 21)

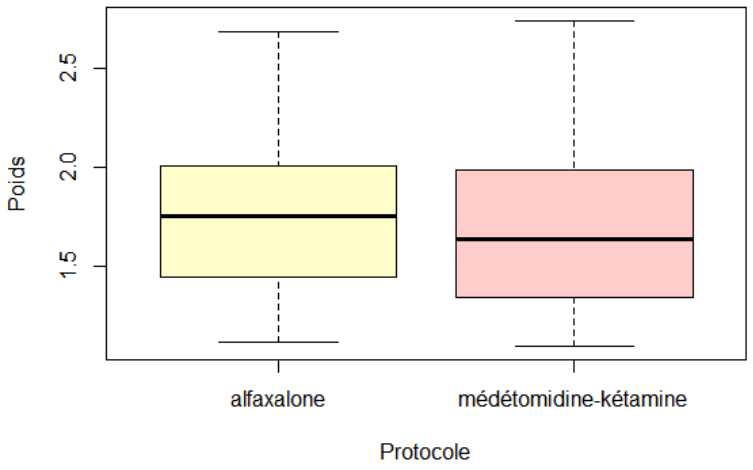

Figure 21 : Poids en kg des tortues en fonction du protocole. Répartition semblable entre les deux groupes. Source : Laurène Gantner, Rstudio.

De même, en termes d'évaluation clinique pré anesthésique, l'examen clinique des tortues des deux groupes était sans anomalies.

Les groupes étaient homogènes et permettaient une étude comparative sans biais lié au poids ou à la condition clinique de l'animal.

b- Etude des temps caractéristiques de l'anesthésie

i. Description des résultats

Les temps caractéristiques de l'induction ne présentaient pas une distribution normale. Les résultats des tests de Shapiro-Wilk sont présentés ci-dessous :

- Temps de relaxation musculaire, $\mathbf{T_{MR}}$: $p = 2{,}4 \times 10^{-6}$
- Temps de l'intubation endotrachéale, $\mathbf{T_i}$: $p = 2{,}0 \times 10^{-6}$
- Temps où le score de profondeur d'anesthésie devient < 3, $\mathbf{T_{score}}$: $p = 9{,}1 \times 10^{-7}$

Pour les temps caractéristiques du réveil (réapparition du tonus musculaire $\mathbf{T_{MT}}$, extubation $\mathbf{T_{ext}}$, réveil complet $\mathbf{T_{walk}}$), l'hypothèse d'une distribution normale n'était pas écartée uniquement pour $\mathbf{T_{walk}}$ (p=0,1).

Les médianes des temps caractéristiques ont donc été préférées à la valeur moyenne pour comparer les protocoles et sont présentées dans le tableau 2.

*Tableau II : Médianes +/- écart-type des temps caractéristiques de l'anesthésie (en minutes) en fonction du protocole d'induction de l'anesthésie administré à des tortues de Florides. * : Différence significative entre les deux protocoles (p<0.05).*

Temps caractéristique relevé	**Protocole d'induction de l'anesthésie**	
	Alfaxalone 20mg/kg (n=20)	Médétomidine 0,2mg/kg – kétamine 10mg/kg (n=23)
T_{MR} (relaxation musculaire)	4 ± 2*	14 ± 12*
T_i (intubation trachéale)	9,5 ± 4*	20 ± 16*
T_{score} (score d'anesthésie devient < 3)	25 ± 9,5*	35 ± 25,5*
T_{MT} (réapparition tonus musculaire)	149,5 ± 48	203 ± 68,5
T_{ext} (extubation)	167±48,5	203±86
T_{walk} (réveil complet)	217 ± 76,5	259 ± 529

La relaxation musculaire est plus rapide avec l'alfaxalone qu'avec l'association médétomidine kétamine. De façon générale, tous les temps caractéristiques de l'induction de l'anesthésie sont atteints plus rapidement avec le protocole à base d'alfaxalone.

De plus, les variances sont beaucoup plus élevées pour les temps du groupe MK, témoignant d'une grande dispersion des résultats et d'une variabilité importante dans les effets de ce protocole. (Tableau 3)

Tableau III : Variances des temps caractéristiques selon le protocole d'anesthésie utilisé pour la stérilisation de deux groupes de tortues de Floride : alfaxalone (A) ou médétomidine-kétamine (MK).

	Groupe A	**Groupe MK**
Variance T_{MR}	4,62	140,85
Variance T_i	14,66	252,72
Variance T_{score}	90,2	640,71
Variance T_{MT}	2328	4712
Variance T_{ext}	2351	7412
Variance T_{walk}	5848	279903

ii. Efficacité de l'induction

Les diagrammes en boîte des logarithmes des temps de relaxation musculaire $\mathbf{T_{MR}}$, d'intubation trachéale $\mathbf{T_i}$, et de profondeur d'anesthésie suffisante pour débuter la chirurgie $\mathbf{T_{score}}$ ont été tracés dans la figure 22, les variances sont proches et la distribution normale.

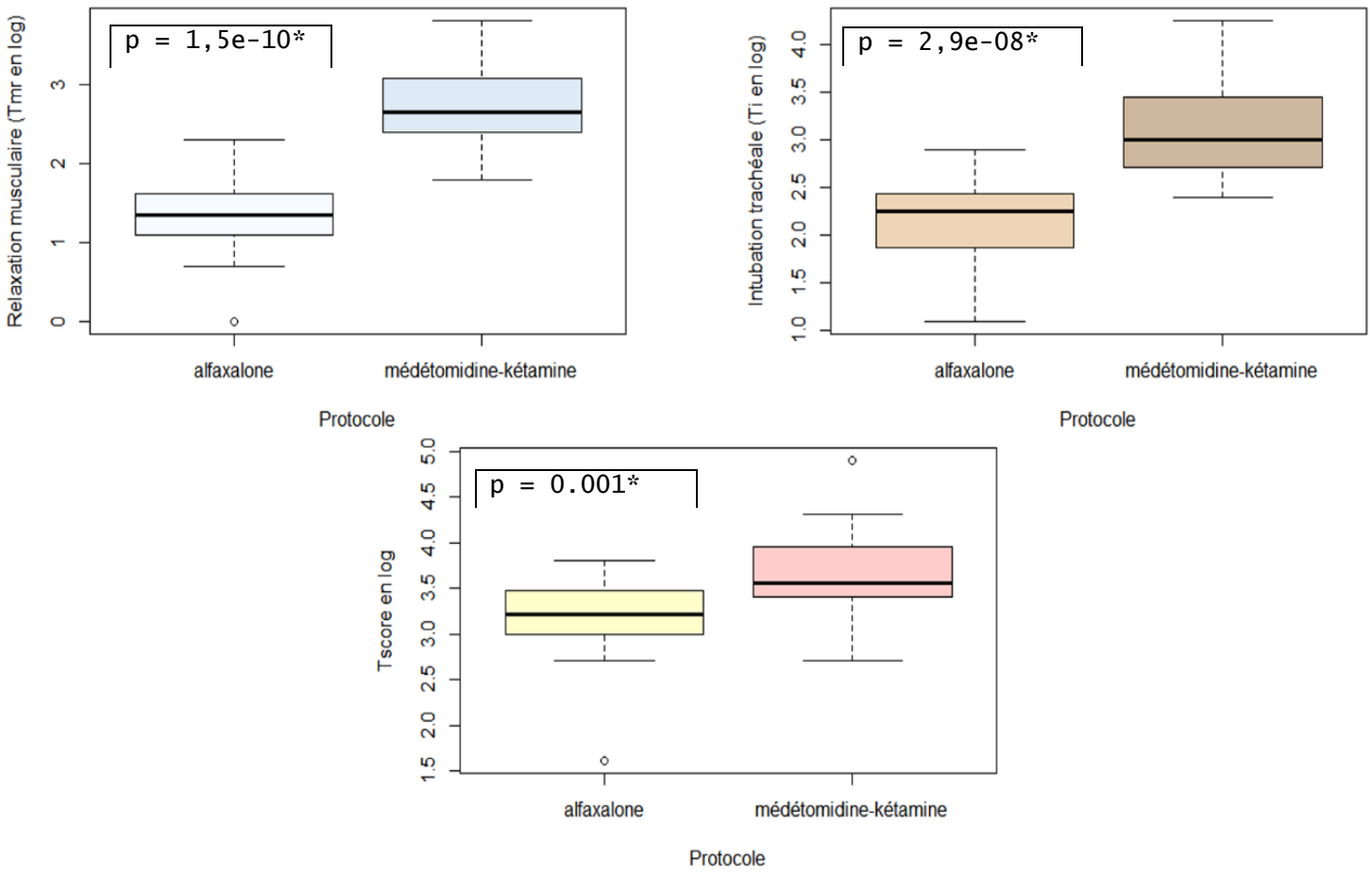

*Figure 22: Diagrammes en boîte des temps caractéristiques de l'induction de l'anesthésie après transformation logarithmique pour deux groupes de tortues de Floride induite avec de l'alfaxalone (n=20) ou l'association médétomidine-kétamine (n=23). *différence significative. Source : Laurène Gantner, Rstudio.*

Les temps $\mathbf{T_{MR}}$, $\mathbf{T_i}$, et $\mathbf{T_{score}}$ étaient respectivement 4,5 ; 2,8 et 1,7 fois plus petits pour le groupe induit à l'alfaxalone que pour le groupe MK (valeurs p-prédictives respectives de $1{,}5 \times 10^{-10}$; $2{,}9 \times 10^{-08}$; 0,001).

L'induction était significativement plus rapide pour les tortues anesthésiées avec de l'alfaxalone.

iii. Récupération post-chirurgicale

Les diagrammes en boîte ont été tracés pour représenter les logarithmes des temps de réapparition du tonus musculaire $\mathbf{T_{MT}}$ en fonction du protocole (figure 23).

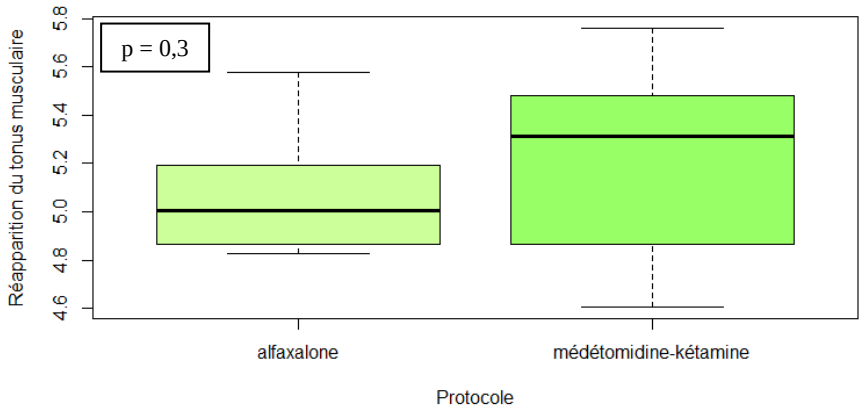

Figure 23: Diagramme en boîte du logarithme du temps de réapparition du tonus musculaire chez deux groupes de tortues de Floride anesthésiées avec deux protocoles différents. Source : Laurène Gantner, Rstudio.

Les temps de réapparition du tonus musculaire ($\mathbf{T_{MT}}$) ne sont pas significativement différents entre les deux protocoles (p-value = 0,3), on ne peut donc pas conclure à un effet du protocole sur le temps de réapparition du tonus musculaire.

Le temps où l'animal pouvait être extuber $\mathbf{T_{ext}}$ a été analysé, les diagrammes en boîte qui représentent le logarithme de $\mathbf{T_{ext}}$ en fonction du protocole se trouvent figure 24.

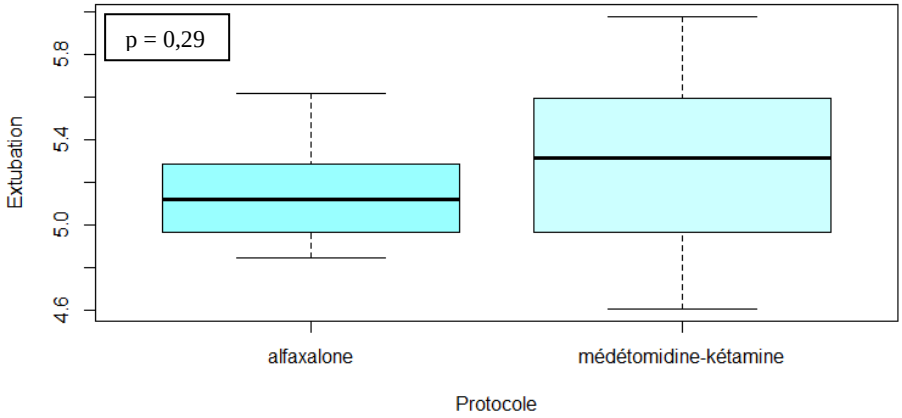

Figure 24: Diagramme en boîte du logarithme du temps d'extubation T_{ext} chez deux groupes de tortues de Floride anesthésiées avec deux protocoles différents. Source : Laurène Gantner, Rstudio.

Les temps d'extubation ($\mathbf{T_{ext}}$) ne sont pas significativement différents entre les deux protocoles (p=0,29). On ne peut donc pas conclure à un effet du protocole sur ce temps caractéristique du réveil.

Pour le temps caractéristique de récupération complète, $\mathbf{T_{walk}}$, le temps varie de 2h10 à 27h23 (ces deux extrêmes ont été observés avec le groupe MK). Il n'y avait pas de tendance associée à un protocole en particulier.

c- Paramètres per-opératoires

i. Profondeur d'anesthésie

Sur les graphes suivants (figure 24), les scores de profondeur d'anesthésie ont été tracés en fonction du temps pour chaque protocole. La moyenne de ces scores a été tracée en rouge par-dessus les graphes pour chaque protocole afin de les comparer.

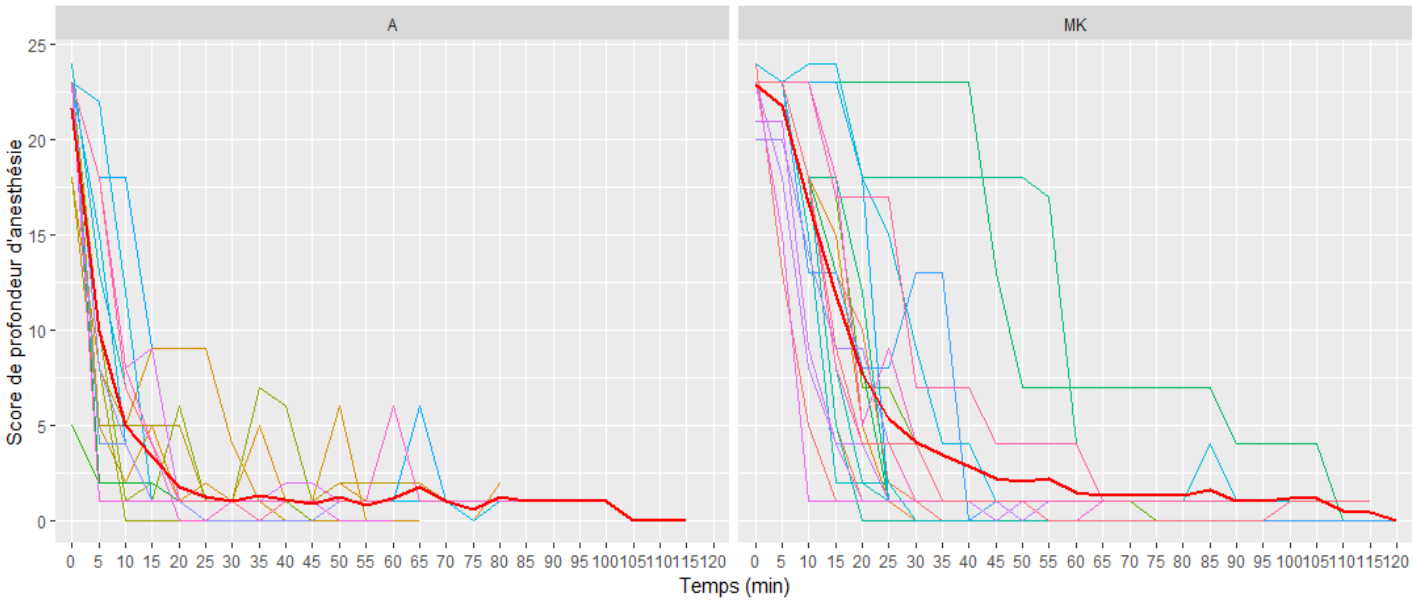

Figure 25 : Score de profondeur d'anesthésie en fonction du temps chez deux groupes de tortues de Floride, anesthésiées avec de l'alfaxalone (A, n=20) ou l'association médétomidine-kétamine (MK, n=23). Chaque courbe de couleur représente un individu distinct. Source : Laurène Gantner, Rstudio.

Les individus s'endorment plus rapidement (diminution plus rapide du score de profondeur d'anesthésie) avec le protocole d'induction à base d'alfaxalone comparé au protocole MK. En effet, le score de profondeur d'anesthésie devient inférieur à 3 (**T_{score}**) dès 25+/- 9,5 minutes pour le groupe A, contre 35 +/-25,5 minutes pour le groupe MK (valeurs médianes), avec une différence significative entre les protocoles entre T5 et T35 ($p<0.05$). Ensuite, à partir de T40, il n'y a plus de différence significative entre les protocoles.

ii. Score de nociception

Le score de nociception est représenté en fonction du temps pour chaque tortue en fonction du protocole sur les graphes suivants (Figure 26) et une moyenne est tracée en rouge.

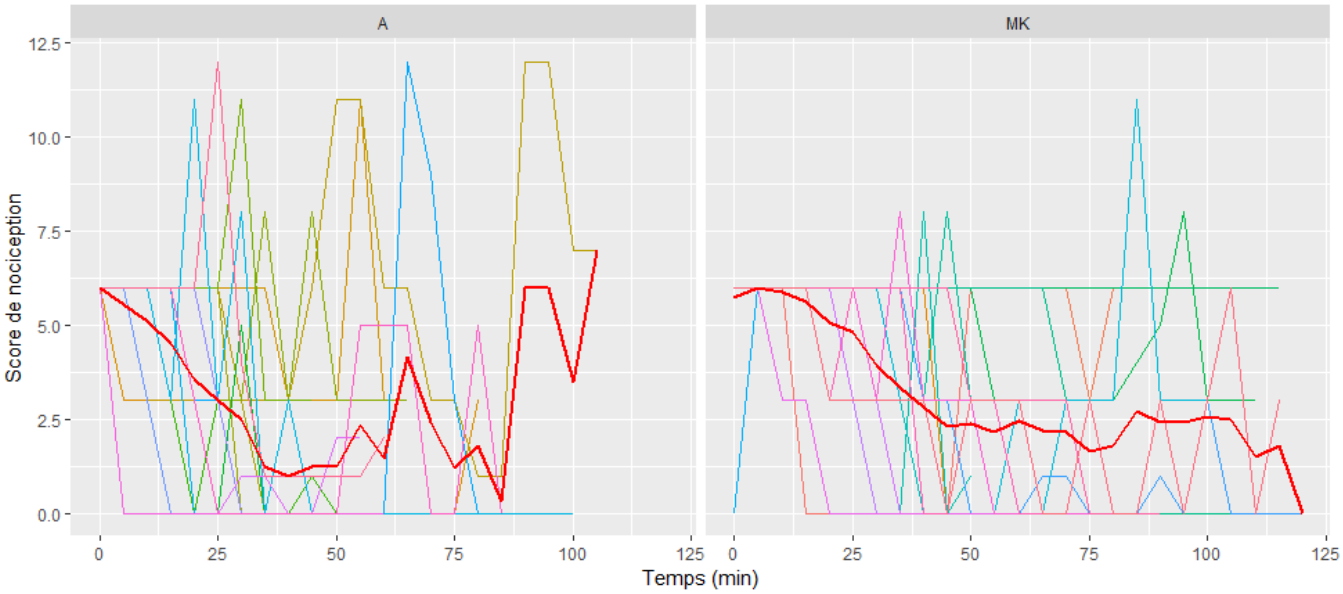

Figure 26: Score de nociception en fonction du temps chez deux groupes de tortues de Floride, anesthésiées avec de l'alfaxalone (A, n=20) ou l'association médétomidine-kétamine (MK, n=23). Source : Laurène Gantner, Rstudio.

L'Anova à mesures répétées ne permet pas de mettre en évidence de différence significative d'analgésie entre les deux protocoles. (p=0,0523) De même, les t-tests effectués temps par temps ne mettent pas en évidence de différence significative entre les deux protocoles, sauf ponctuellement, comme c'est le cas à T_{35} (p= 0.01).

iii. Fréquence cardiaque

La fréquence cardiaque est présentée dans les graphes suivants (figure 27) pour chaque protocole en fonction du temps en minutes. La moyenne de ces fréquences à un instant t est tracée en rouge par-dessus les courbes.

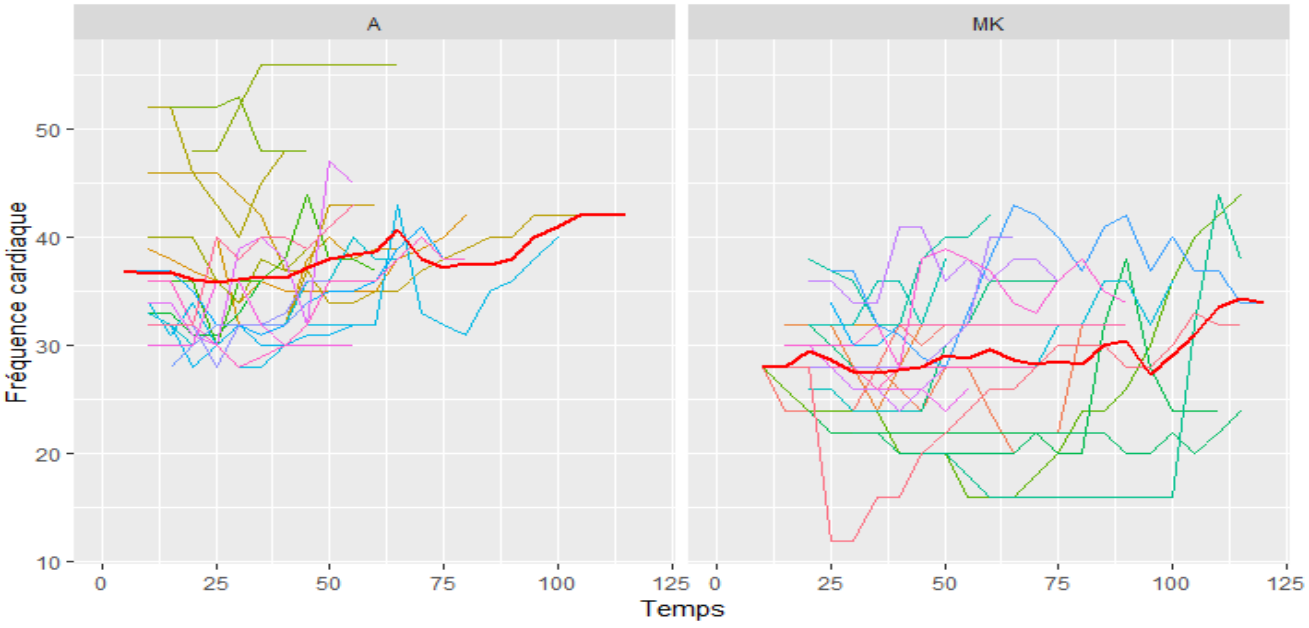

Figure 27: Fréquences cardiaques au cours du temps chez deux groupes de tortues de Floride, anesthésiées avec de l'alfaxalone (A, n=20) ou l'association médétomidine-kétamine (MK, n=23). Chaque courbe de couleur correspond à un individu distinct. Source : Laurène Gantner, Rstudio.

Des pics de tachycardie en cours de procédure correspondent aux incisions cutanées ou à l'extériorisation des grappes ovariennes.

Le protocole à base de médétomidine-kétamine induisait une diminution de la fréquence cardiaque importante, et très marquée pour trois individus dont la fréquence cardiaque a chuté en dessous de 20 battements par minutes (bpm) en cours de chirurgie, avant de progressivement remonter.

L'Anova avec mesures répétées a permis de mettre en évidence que la fréquence cardiaque était significativement plus basse avec le protocole d'induction de l'anesthésie à base de médétomidine et de kétamine ($p = 8{,}8 \times 10^{-08}$). Le différence entre les protocoles était significative à chaque temps ($p<0{,}05$).

d- Observations post-opératoires et mortalité

Les tortues ont été relâchées 72 heures après l'opération ; en effet, comme le réveil était long, cela a permis de les observer 48h après leur réveil avant de les relâcher.

Sont à déplorer quelques décès lors de cette période post-opératoire. Le taux de mortalité est de 14%, avec 6 décès sur 43 individus inclus dans l'étude.

Trois décès sont survenus avec le protocole A, tous à J+3 de la procédure chirurgicale. Les tortues se sont bien réveillées puis ont eu une baisse d'état général le deuxième ou troisième jour. Pour deux d'entre elles, des complications chirurgicales survenues en cours de procédure (rupture d'utérus, rupture vésicale) ont expliqué la perte de ces individus. Pour la dernière, des ganglions hypertrophiés et des signes de septicémies laissent penser à une complication infectieuse due à la chirurgie.

Dans le groupe MK, une tortue est décédée 36h après la chirurgie d'une hémolyse intravasculaire dont l'origine n'a pu être déterminée. Aucune bibliographie n'a été trouvée à ce sujet. Deux autres individus sont décédés trois jours après l'opération, l'un d'une pathologie respiratoire très sévère qui n'avait pas été détectée à l'examen clinique préalable et l'autre probablement des suites de l'anesthésie (cf IV. Discussion).

IV- Discussion

a- Interprétation des résultats et limites rencontrées

i. Induction

D'après cette étude expérimentale, les deux protocoles ont permis d'induire une anesthésie suffisamment profonde pour obtenir une relaxation musculaire suffisante pour intuber et placer le monitoring sur les individus. Associés à l'isoflurane, les protocoles ont permis la réalisation d'actes chirurgicaux invasifs et longs (oophorectomie dans le cas de l'étude). L'alfaxalone à la dose de 20m/kg et l'association médétomidine 0,2mg/kg – kétamine 10mg/kg peuvent donc être utilisés à ces doses, à la température de 23°C, pour l'induction de l'anesthésie des tortues de Floride.

Les temps caractéristiques de l'induction de l'anesthésie :

L'induction était plus rapide avec l'alfaxalone (groupe A) qu'avec l'association médétomidine kétamine (groupe MK). La relaxation musculaire se faisait à 4 minutes (médiane) pour l'alfaxalone, contre 14 minutes pour le protocole MK.
Dans une étude de Greer et al. citée précédemment (43), l'utilisation de l'association médétomidine-kétamine aux doses respectives de 0.2mg/kg et 10mg/kg entraine une anesthésie dont la profondeur maximale est atteinte entre 30 et 60 minutes après l'induction (étude réalisée à 28°C).
Dans une étude de Kischinovsky et al. citée précédemment (51), l'alfaxalone administrée à la dose de 20mg/kg et à 20°C, permet aux tortues d'atteindre une profondeur d'anesthésie maximale au bout de 5+/-2 minutes.
Ces deux études (43,51) étaient réalisées à des températures différentes, et des critères différents étaient pris en compte pour évaluer la profondeur de l'anesthésie, d'où l'intérêt de notre étude de comparer ces protocoles dans des conditions identiques.

Dans ces conditions d'application identiques des protocoles, les résultats ont mis en lumière une importante variabilité individu-dépendante dans la réponse anesthésique au protocole MK. La variance pour ce protocole était très élevée, tandis qu'avec l'alfaxalone, toutes les tortues s'endormaient rapidement. Le manque de fiabilité du protocole MK n'est pas décrit dans la littérature.

Cette étude expérimentale a ainsi permis de mettre en avant une induction plus rapide et plus fiable avec l'alfaxalone qu'avec l'association médétomidine-kétamine. Nous ne parlerons cependant pas d'induction « plus efficace » puisque les profondeurs d'anesthésie atteintes sont similaires pour les deux protocoles, bien que cette profondeur soit plus lente à atteindre pour le protocole MK.

ii. Paramètres per-opératoire

En cours de procédure, les paramètres qui ont été monitorés étaient la profondeur de l'anesthésie, la nociception, la fréquence cardiaque. La température interne était mesurée pour vérifier qu'elle restait stable autour de 23 degrés au cours de la procédure.

Initialement, il était prévu de monitorer également la pression, mais les brassards de mesure de pression disponibles n'avaient pas la taille adaptée aux membres des chéloniens.

L'étude met en évidence un effet cardio-dépresseur pour le protocole à base de médétomidine/kétamine. Ces données sont en accord avec l'étude de Greer et al. (43) qui montre une diminution de la FC de 30 à 18 bpm chez les tortues ayant reçu 0,2 mg/kg de médétomidine et 10 mg/kg de kétamine. Ceci résulte de l'effet bradycardisant de la médétomidine observable chez toutes les espèces testées (41).
Certaines tortues ont été plus sensibles à l'injection de médétomidine et kétamine, avec des fréquences cardiaques qui ont diminué davantage, passant sous le seuil de 20 battements par minute.

Chez les chéloniens, la baisse de la fréquence cardiaque est un processus que l'on peut observer de façon physiologique lors des périodes de dormance. Cette diminution de la fréquence cardiaque est alors associée à de très nombreux changements métaboliques et à une activité réduite des organes et de l'animal. Il n'existe pas de données sur les effets d'une baisse importante de la fréquence cardiaque de l'animal en dehors des périodes de dormance, mais il est probable qu'elle produise de nombreux changements métaboliques et soit délétère pour l'animal.

iii. Récupération post chirurgicale

Les temps caractéristiques du réveil :

Les données sur les temps caractéristiques du réveil n'ont pas pu être interprétées comme initialement prévu, elles ont été impactées par des temps de chirurgie très différents. Selon la taille des individus, la forme de leur carapace et la taille des grappes ovariennes, la chirurgie pouvait durer 15 minutes ou plus d'une heure.
On ne peut rien conclure sur les temps de réveil entre les deux protocoles.
Evaluer un temps de réveil en prenant comme T_0 le moment d'arrêt de l'isoflurane pour comparer les durées de réveil entre les protocoles n'aurait pas été pertinent non plus puisque les tortues auraient inhalé des pourcentages d'isoflurane différents, sur des durées différentes.

Pour comparer les temps de réveil entre les deux protocoles, il ne faudrait pas utiliser de relais pour la maintenance de l'anesthésie et effectuer des anesthésies purement expérimentales sans prévoir de chirurgie simultanément.

Pour un suivi plus rigoureux du réveil, et en sachant que les tortues mettent souvent plusieurs heures à se réveiller totalement d'une anesthésie, il faudrait prévoir d'effectuer les anesthésies uniquement en début de journée. Sinon, en fonction du budget disponible, il aurait également été possible de prévoir l'achat d'une caméra afin de suivre le réveil des individus y compris durant la nuit.

Mortalité :

Six décès ont été à déplorer dans les 3 jours suivant l'opération. Pour 4 d'entre eux, l'autopsie a permis de mettre en évidence une cause qui n'était pas directement liée à l'anesthésie (pathologie respiratoire, septicémie, autre complication liée à la chirurgie).

Concernant l'une des 6 tortues décédées après la chirurgie, l'anesthésie semble être en cause. En effet, le score d'analgésie et d'anesthésie de cette dernière tortue ont rapidement chuté à 0 et l'isoflurane a été coupé dès le début de la chirurgie qui a été rapide. La tortue ne s'est cependant jamais réveillée après l'injection d'atipamézole, et son rythme cardiaque, monitoré pendant 72h, a progressivement diminué, malgré les tentatives médicales de réanimation (application du protocole d'urgence, cf annexe 8).

L'autopsie de la 6ème tortue n'a pas permis de conclure quant à la cause du décès.

Le risque anesthésique demeure élevé chez les chéloniens, en dépit d'opérations menées dans des conditions optimales (en été, à la température préférée corporelle de l'espèce, sur des individus sains, avec des molécules déjà étudiées auparavant chez l'espèce aux mêmes doses).

b- Critique des protocoles

Les protocoles établis et utilisés pour l'étude, bien que remplissant les fonctions souhaitées pour l'anesthésie des tortues, peuvent être améliorés, modifiés, adaptés et ne font pas figure de référence unique dans le domaine de l'anesthésie des tortues.

iv. La prémédication

Dans les protocoles étudiés, la prémédication est effectuée avec de la morphine. Ce choix a été fait pour des raisons pratiques : molécule disponible dans la pharmacie vétérinaire du parc zoologique où l'étude a été menée, coût inférieur à d'autres molécules anesthésiques, etc.

Cependant, la prémédication pourrait être effectuée avec du tramadol. En effet il a été démontré que cet opioïde est efficace comme agent analgésique chez les tortues de Floride, et présente moins d'effets indésirables que la morphine (57). Son efficacité est plus grande lorsqu'il est administré par voie orale.

La prémédication pourrait ainsi être modifiée légèrement avec une molécule de la même famille que la morphine mais produisant une dépression cardio-respiratoire moindre.

v. L'induction et la maintenance de l'anesthésie

Concernant l'induction, les contraintes majeures ont été rigoureusement respectées dans le choix des protocoles : molécules administrables par voie intramusculaire et études préalables attestant de l'efficacité de ces molécules chez les espèces étudiées.

En ce qui concerne la maintenance à l'isoflurane, la contrainte liée aux grilles de scores d'anesthésie n'était pas toujours pertinente. En effet, les grilles d'anesthésie permettaient d'augmenter ou de diminuer le pourcentage d'isoflurane délivré (ou de le maintenir à l'identique) selon le score de profondeur d'anesthésie. Le pourcentage d'isoflurane délivré était augmenté ou diminué de 0,5% toutes les 5 minutes en fonction du score. Lorsque le score de profondeur d'anesthésie était trop élevé, autrement dit quand la profondeur d'anesthésie était insuffisante, il fallait donc 15 minutes pour augmenter le pourcentage d'isoflurane délivré de 1,5%, et autant pour le diminuer de 1,5%. Ces délais étaient trop longs pour répondre à des signes de réveil imminents.

De plus, concernant l'isoflurane, la quantité d'isoflurane réellement inhalé par les tortues est inconnue en raison des shunts cardiaques fluctuants.

Pour éviter les shunts, l'utilisation d'atropine à la dose de 1mg/kg IV a fait ses preuves chez la tortue charbonnière qui est une espèce terrestre. (27) Cette piste reste à explorer chez la tortue de Floride pour assurer une anesthésie gazeuse plus fiable, plus efficace et plus stable.

En somme, le protocole pourrait encore être amélioré sur certains points, pour tenter de diminuer le risque anesthésique et de rendre plus fiable la maintenance avec un anesthésique gazeux.

vi. Soins post-opératoires

L'observation post-opératoire sur au moins 48h de réveil sans complication avant la mise à l'étang des tortues a été suffisante pour observer les éventuelles complications, et pour attester de la bonne santé des tortues relâchées. En effet, aucune des tortues relâchées n'est décédée des suites de l'anesthésie ou de la chirurgie, et elles ont été retrouvées en bonne santé après l'hiver, leur période de dormance s'étant bien déroulée.

Les signes cliniques associés à la douleur n'ont pas été observés chez les tortues opérées. Il est probable que certains individus aient été douloureux après la chirurgie, et il serait intéressant d'établir une grille d'évaluation de la douleur plus pointue chez les tortues afin de mieux adapter la prise en charge de la douleur post-chirurgicale. Une autre solution serait d'administrer un opioïde (tramadol par exemple) 48 heures après la chirurgie même si les signes de douleur sont difficilement repérables, pour être sûr de soulager une douleur éventuelle.

c- Pertinence des scores établis

Les scores d'évaluation de la profondeur d'anesthésie et d'évaluation de la nociception ont été établis à partir de critères cliniques d'évaluation déjà décrits dans la littérature, comme dans le manuel « Zoo and Wildlife Immobilization » (73) ou dans l'étude « Pain and its control in reptiles ». (72) Cependant, les grilles de scores établies sont nouvelles et ne sont pas forcément un témoin fiable.

En effet, il faudrait évaluer ces grilles de scores dans d'autres contextes et élargir leur utilisation à d'autres études afin de confirmer leur pertinence dans l'évaluation de la nociception en cours de chirurgie, et l'évaluation de la profondeur d'anesthésie.

De plus, les scores sont fortement dépendants de la subjectivité de l'observateur. Pour rester cohérents au cours de cette étude, tous les signes cliniques, tous les suivis anesthésiques et tous les calculs de scores ont été réalisés par un opérateur unique, aveugle au protocole, afin de ne pas introduire une erreur extrinsèque liée à la subjectivité de l'opérateur dans les résultats. Il est donc possible que ces mêmes grilles de scores utilisées par une autre personne donnent des résultats différents et ne semble pas adaptée, d'où la nécessité d'évaluer la pertinence de ces scores dans des études ultérieures.

CONCLUSION

Afin d'éviter une surpopulation et la reproduction des tortues de Floride, certains parcs animaliers les recueillent et effectuent une ovariectomie sur les tortues femelles.

Le vétérinaire a une obligation de moyens sur les interventions de convenance. Toutes les précautions doivent être prises en matière d'intervention chirurgicale et de sécurité anesthésique. Il importe d'utiliser un protocole anesthésique fiable procurant une anesthésie adaptée aux actes chirurgicaux prévus. Ces interventions nécessitent également une analgésie adéquate. Or, les données sur l'anesthésie et l'analgésie des reptiles sont encore insuffisantes.

Cette étude avait pour but de comparer deux protocoles anesthésiques pour stériliser des tortues de Florides. Les protocoles proposés différaient pour l'induction de l'anesthésie, l'un comportant de l'alfaxalone et l'autre une association de deux molécules, la kétamine et la médétomidine.
Les deux protocoles ont permis une anesthésie assez profonde pour la réalisation d'une intervention chirurgicale, avec une perte de conscience, une relaxation musculaire et une analgésie compatible avec la procédure.
L'alfaxalone (groupe A) a permis une induction plus rapide et plus fiable (résultats plus reproductibles, variances plus faibles) que la kétamine associée à la médétomidine. La relaxation musculaire arrivait plus précocement pour le groupe A, ce qui permettait d'intuber plus rapidement les patients, de mettre en place le monitoring et de débuter la chirurgie plus rapidement.
Le protocole à base de médétomidine-kétamine a provoqué une dépression cardiaque chez l'ensemble des tortues du groupe MK. L'alfaxalone n'a pas présenté d'effets indésirables cardiovasculaires.
L'alfaxalone semble présenter des avantages par rapport à l'association médétomidine-kétamine pour l'induction de l'anesthésie chez la tortue de Floride.
Il serait intéressant d'étudier l'intérêt de l'alfaxalone pour la maintenance de l'anesthésie par voie intraveineuse.

BIBLIOGRAPHIE

1. COIC C. (2008). *Guide des tortues de France*. Editions Sud-Ouest. 2008.

2. CADI A. et al. (2004). Successful reproduction of the introduced slider turtle (Trachemys scripta elegans) in the South of France. [en ligne] *Aquatic Conservation Marine and Freshwater Ecosytems,* Volume 14: 237-246. Disponible sur : https://onlinelibrary-wiley-com.ezproxy.vetagro-sup.fr/doi/10.1002/aqc.607. [consulté le 25 septembre 2018.]

3. CADI A, JOLY P. (2004). Impact of the introduction of the red-eared slider (Trachemys scripta elegans) on survival rates of the European pond turtle (Emys orbicularis). [en ligne] *Biodiversity and Conservation.* 1;13(13):2511–8. Disponible sur : https://www.researchgate.net/publication/227260862_Impact_of_the_introduction_of_the_redeared_slider_Trachemys_scripta_elegans_on_survival_rates_of_European_pond_turtle_Emys_orbicularis. [consulté le 25 septembre 2018]

4. CADI A, JOLY P. (2003). Competition for basking places between the endangered European pond turtle (Emys orbicularis galloitalica) and the introduced red-eared slider (Trachemys scripta elegans). [en ligne] *Canadian Journal of Zoology*. 81. 10. 1139/z03-108. Disponible sur : https://www.researchgate.net/publication/228434179_Competition_for_basking_places_between_the_endangered_European_pond_turtle_Emys_orbicularis_galloitalica_and_the_introduced_red-Eared_slider_Trachemys_scripta_elegans/citation/download. [consulté le 25 septembre 2018]

5. HERITIER L et al. (2017). Introduction and invasion of the red-eared slider and its parasites in freshwater ecosystems of Southern Europe: risk assessment for the European pond turtle in wild environments. [en ligne] *Biodiversity and Conservation.*1;26(8):1817–43. Disponible sur : https://tourduvalat.org/publications/article-introduction-and-invasion-of-the-red-eared-slider-and-its-parasites-in-freshwater-ecosystems-of-southern-europe-risk-assessment-for-the-european-pond-turtle-in-wild-environments/. [Consulté le 25 septembre 2018]

6. UE. RÈGLEMENT D'EXÉCUTION 2016/ 1141 DE LA COMMISSION - du 13 juillet 2016 - adoptant une liste des espèces exotiques envahissantes préoccupantes pour l'Union conformément au règlement (UE) no 1143/ 2014 du Parlement européen et du Conseil.

7. FRANCE. MINISTERE DE L'AGRICULTURE, DE L'ALIMENTATION, DE LA PECHE ET DES AFFAIRES RURALES & MINISTERE DE L'ECOLOGIE ET DU DEVELOPPEMENT DURABLE. Arrêté du 10 août 2004 fixant les conditions d'autorisation de détention d'animaux de certaines espèces non domestiques dans les établissements d'élevage, de vente, de location, de transit ou de présentation au public d'animaux d'espèces non domestiques.

8. Pôle-relais lagunes méditerranéennes. *Opération en faveur de la cistude d'Europe : campagne expérimentale de piégeage des tortues de Floride (83)* URL : https://pole-lagunes.org/operation-en-faveur-de-la-cistude-deurope-campagne-experimentale-de-piegeage-des-tortues-de-floride-83/ [consulté le 25 septembre 2018]

9. MOSLEY C. (2011) Pain and nociception in reptiles. [en ligne] *Veterinary Clin North Am Exot Anim Pract.*14(1):45–60. Disponible sur : https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21074702 [consulté le 04 mai 2017]

10. MOON P.F. (2001). Reptiles: Aquatic Turtles (Chelonians). *Zoological restraint and anesthesia.* International Veterinary Information Service (www.ivis.org).

11. GENG J., DONG W., WU Q., LU H-L. (2018) Thermal tolerance for two cohorts of a native and an invasive freshwater turtle species. [en ligne] *Acta Herpetologica.* 30;13(1):83–8. Disponible sur : http://www.fupress.net/index.php/ah/article/view/20887 [consulté le 13 septembre 2018]

12. ULTSCH GR. (1989) Ecology and physiology of hibernation and overwintering among freshwater fishes, turtles and snakes. [en ligne] *Biological Reviews - Cambridge Philosophical Society*. 64(4):435–516. Disponible sur: https://onlinelibrary-wiley-com.ezproxy.vetagro-sup.fr/doi/abs/10.1111/j.1469-185X.1989.tb00683.x [consulté le 17 septembre 2018]

13. GATTEN RE. (1987) Cardiovascular and other physiological correlates of hibernation in aquatic and terrestrial turtles. [en ligne] *Integrative and Comparative Biology.* 27(1):59–68. Disponible sur: https://doi-org.ezproxy.vetagro-sup.fr/10.1093/icb/27.1.59 [consulté le 17 septembre 2018]

14. MADSEN JG. et al. (2013) Detecting spring after a long winter: coma or slow vigilance in cold, hypoxic turtles? [en ligne] *Biology Letters.* 23;9(6):20130602. Disponible sur : http://rsbl.royalsocietypublishing.org/content/9/6/20130602 [consulté le 24 septembre 2018]

15. JACKSON DC. (2002) Hibernating without oxygen: physiological adaptations of the painted turtle. [en ligne] *The Journal of Physiology*. 15;543(Pt 3):731–7. Disponible sur : https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2290531/ [consulté le 24 septembre 2018]

16. MILTON SL, PRENTICE HM. (2007) Beyond anoxia: the physiology of metabolic downregulation and recovery in the anoxia-tolerant turtle. [en ligne] *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* 147(2):277–90. Disponible sur : https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1975785/ [consulté le 26 septembre 2018]

17. REESE S.A. et al. (2001) The physiology of hibernation in common map turtles (Graptemys geographica). [en ligne] *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* 1;130(2):331–40. Disponible sur : http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1095643301003981 [consulté le 17 septembre 2018]

18. SCHWANZ L. et al. (2011) State-dependent physiological maintenance in a long-lived ectotherm, the painted turtle (Chrysemys picta). [en ligne] *J Exp Biol.* 1;214(Pt 1):88–97. Disponible sur : https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21147972 [consulté le 27 septembre 2018]

19. HOLZ P., MADER D.R. Chapter 11 - Renal Anatomy and Physiology. In: Mader Douglas R. (2006). *Reptile Medicine and Surgery (Second Edition)*. Saint Louis: W.B. Saunders, p. 135–44.

20. HOLZ P. et al. (1997) The anatomy and perfusion of the renal portal system in the red-eared slider (Trachemys scripta elegans). [en ligne] *J Zoo Wildl Med Off Publ Am Assoc Zoo Vet*. 28(4):378–85. Disponible sur : https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9523630 [consulté le 13 septembre 2018]

21. HOLZ P. et al. (1997). The effect of the renal portal system on pharmacokinetic parameters in the red-eared slider (Trachemys scripta elegans). [en ligne] *J Zoo Wildl Med Off Publ Am Assoc Zoo Vet.* 28(4):386–93. Disponible sur : https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9523631 [consulté le 13 septembre 2018]

22. LAHNER L., MANS C., SLADKY K. (2011). Comparison of anesthetic induction and recovery times after intramuscular, subcutaneous or intranasal dexmedetomidine-ketamine administration in red-eared slider turtles (*Trachemys scripta elegans*). *Conf American Association Zoo Vet Kansas City*. *January 1, 2011*.

23. GIUSEPPE M.D. et al. (2018) Preliminary survey on influence of renal portal system during propofol anesthesia in yellow-bellied turtle (Trachemys scripta scripta). [en ligne] *Research Article - Journal of Veterinary Medicine and Allied Science 2(1):4*. Disponible sur : https://www.alliedacademies.org/abstract/preliminary-survey-on-influence-of-renal-portal-system-during-propofol-anesthesia-in-yellowbellied-turtle-trachemys-scripta-script-10450.html [consulté le 14 septembre 2018]

24. BENNETT T. (2011) The Chelonian Respiratory System. *Veterinary Clin North Am Exot Anim Pract.* 1;14(2), pp. 225–239.

25. SCHACHNER E. et al. (2017) Pulmonary anatomy and a case of unilateral aplasia in a common snapping turtle (Chelydra serpentina): developmental perspectives on cryptodiran lungs. [en ligne] *J Anat*. 231(6):835-848 Disponible sur : https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29063595 [consulté le 06/10/2018]

26. Giuseppe M.D. *Heart anatomy on different vertebrates - The Cardio Research Web Project.* [en ligne] URL: http://www.cardio-research.com/heart-anatomy-on-different-vertebrates [consulté le 25 novembre 2018]

27. GREUNZ E.M. et al. (2018) Elimination of Intracardiac Shunting Provides Stable Gas Anesthesia in Tortoises. [en ligne] *Sci Rep.* 20;8(1):17124 Disponible sur : https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30459408 [consulté le 25 novembre 2018]

28. FARMER CG. (2002).The Intracardiac Shunt as a Source of Myocardial Oxygen in a Turtle, Trachemys scripta. *Integr Comp Biol.* 42(2), pp:208–215.

29. CVC - Central Veterinary Conference (2010). *Reptilian cardiovascular anatomy and physiology: evaluation and monitoring, 1st nov. 2010, San Diego. DVM* 360, San Diego.

30. STOELTING R.K., LONGNECKER D.F. (1972) The Effect of Right-to-left Shunt on the Rate of Increase of Arterial Anesthetic Concentration. *Anesthesiol J Am Soc Anesthesiol*. 1;36(4), pp:352–356.

31. Dr MARTINEZ Nicolas. *Chirurgie tortue : la plastronomie ou ouverture de la carapace*. [en ligne] URL: http://www.cliniquelingostiere.com/plastronomie-ouverture-carapace-tortue_188.aspx?me=356 [consulté le 2 janvier 2019]

32. LERIQUIER C., GUINTARD C. (2016). Etude anatomique d'une voie d'abord historique, la coeliotomie transplastrale, chez une tortue des steppes. *Cahier d'Anatomie Comparée,* 30;7:24–40.

33. INNIS C.J. (2010). Endoscopy and endosurgery of the chelonian reproductive tract. [en ligne] *Vet Clin North Am Exot Anim Pract.* 243–54. Disponible sur : https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20381775 [consulté le 13 septembre 2018]

34. INNIS C.J., HERNANDEZ-DIVERS S., MARTINEZ-JIMENEZ D. (2007). Coelioscopic-assisted prefemoral oophorectomy in chelonians. [en ligne] *J Am Vet Med Assoc.* 1;230(7):1049–52. Disponible sur : https://pdfs.semanticscholar.org/b613/9a1df07a8b761ff2293898bbf445b202c57d.pdf [consulté le 08 août 2017]

35. PROENÇA L.M., DIVERS S.J. (2015) Coelioscopic and Endoscope-Assisted Sterilization of Chelonians. [en ligne] *Veterinary Clin North Am Exot Anim Pract.* 18(3):555–70. Disponible sur: http://seaturtle.org/library/InnisCJ_2010p_VetClinic NorthAmerExotAnimPrac.pdf [consulté le 13 septembre 2018]

36. RAITI P. (2013). Prefemoral Salpingotomy and Salpingoscopy in a Red-Eared Slider (Trachemys scripta elegans) with Pathologic Egg Retention. [en ligne] *J Herpetol Med Surg.* 1;23(3–4):60–3. Disponible sur: http://www.bioone.org/doi/abs/10.5818/1529-9651-23.3.60 [consulté le 20 septembre 2018]

37. MOSLEY C.A.E. Review of current reptile anaesthetic techniques : the do and don't. (2006) *The North American Veterinary Conference.* Orlando, Florida, 1648p

38. ADEL M. et al. (2017) Anesthetic efficacy of ketamine–diazepam, ketamine–xylazine, and ketamine–acepromazine in Caspian Pond turtles (Mauremys caspica). [en ligne] *Indian J Pharmacol.*49(1):93–97. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5351246/ [consulté le 04 janvier 2019]

39. OPPENHEIM Y.C., MOON P.F. (1995) Sedative Effects of Midazolam in Red-Eared Slider Turtles (Trachemys scripta elegans). [en ligne] *J Zoo Wildl Med.* 26(3):409–13. Disponible sur : https://www.jstor.org/stable/20095499 [consulté le 04 janvier 2019]

40. Dr vet MANS Christoph. Reptile Sedation, Anesthesia and Analgesia. (2015) *Exoticscon, 29 août -3 sept., San Antonio, Texas.* Disponible sur : http://c.ymcdn.com/sites/members.arav.org/resource/resmgr/Files/Proceedings_2015/Pre_Conference/284.pdf [consulté le 06 mai 2017]

41. HANSEN L.L., BERTELSEN M.F. (2013). Assessment of the effects of intramuscular administration of alfaxalone with and without medetomidine in Horsfield's tortoises (Agrionemys horsfieldii). *Vet Anaesth Analg.* 40(6):p68-75.

42. MOSLEY C.A.E. (2005) Anesthesia and Analgesia in Reptiles. [en ligne] *Semin Avian Exot Pet Med.* 14(4):243–62. Disponible sur: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1055937X05000733 [consulté le 13 septembre 2018]

43. GREER L.L., JENNE K.J., DIGGS H.E. (2001) Medetomidine-ketamine anaesthesia in red-eared slider turtles (Trachemys scripta elegans). [en ligne] *Contemp Top Lab Anim Sci.* 40(3):9–11. Disponible sur : https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11353517 [consulté le 04 mai 2017]

44. CHITTICK E.J. et al.(2002). Medetomidine, ketamine, and sevoflurane for anesthesia of injured loggerhead sea turtles: 13 cases (1996-2000). [en ligne] *J Am Vet Med Assoc.* 1;221(7):1019–1025. Disponible sur : https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12369681 [consulté le 22 octobre 2019]

45. HOLZ P., HOLZ R.M. (1994). Evaluation of Ketamine, Ketamine/Xylazine, and Ketamine/Midazolam Anesthesia in Red-Eared Sliders (Trachemys scripta elegans). [en ligne]. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine.* Vol. 25, No.4, :531-537 Disponible sur : https://www.jstor.org/stable/20095413?seq=1#page_scan_tab_contents [consulté le 15 mars 2019]

46. SLADKY K.K., KINNEY M.E., JOHNSON S.M. (2009). Effects of opioid receptor activation on thermal antinociception in red-eared slider turtles (Trachemys scripta). [en ligne] *Am J Vet Res.* 70(9):1072–8. Disponible sur : https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19719421 [consulté le 04 mai 2017]

47. BARRILLOT B. et al. (2018) Intramuscular administration of ketamine-medetomidine assures stable anaesthesia needed for long-term surgery in the Argentine tegu salvator merianae. *J Zoo Wildl Med Off Publ Am Assoc Zoo Vet.* 49(2):291–6.

48. SLADKY K.K., MANS C. (2012). Clinical Anesthesia in Reptiles. *J Exot Pet Med.* 1;21(1):17–31.

49. BENNETT R.A., SCHUMACHER J., HEDJAZI-HARING K., NEWELL S.M. (1998) Cardiopulmonary and anaesthetic effects of propofol administered intraosseously to green iguanas.[en ligne] *J Am Vet Med Assoc.* 1;212(1):93–8. Disponible sur : https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9426788 [Consulté le 31 août 2019]

50. ZIOLO M.S., BERTELSEN M.F. (2009). Effects of propofol administered via the supravertebral sinus in red-eared sliders. *J Am Vet Med Assoc.* 1;234(3):390–3. Disponible sur : https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19210263 [Consulté le 20 septembre 2018]

51. KISCHINOVSKY M., DUSE A., WANG T., BERTELSEN MF. (2013). Intramuscular administration of alfaxalone in red-eared sliders (Trachemys scripta elegans) -- effects of dose and body temperature. *Vet Anaesth Analg.* 40(1):13–20.

52. GOUIN J-P., KIECOLT-GLASER J.K. (2013). The Impact of Psychological Stress on Wound Healing: Methods and Mechanisms. [en ligne] *Immunol Allergy Clin North Am.* 31(1):81–93. Disponible sur : https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3052954/ [Consulté le 05 octobre 2019]

53. PAGE G.G. (2013) The Immune-Suppressive Effects of Pain [en ligne]. *Landes Bioscience.* Disponible sur : https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK6140/ [Consulté le 05 octobre 2019]

54. JOHNSON S.M., MORIS C.M., BARTMAN M.E., WIEGEL L.M. (2010). Excitatory and inhibitory effects of opioid agonists on respiratory motor output produced by isolated brainstems from adult turtles (Trachemys). *Respir Physiol Neurobiol.* 31;170(1):5–15.

55. SLADKY K.K. et al. (2007) Analgesic efficacy and respiratory effects of butorphanol and morphine in turtles. [en ligne] *J Am Vet Med Assoc.* 1;230(9):1356–62. Disponible sur : https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17472564 [Consulté le 04 mai 2017]

56. HAWKINS S.J., COX S, YAW TJ, SLADKY K. (2019) Pharmacokinetics of subcutaneously administered hydromorphone in bearded dragons (Pogona vitticeps) and red-eared slider turtles (Trachemys scripta elegans). *Vet Anaesth Analg.* 1;46(3):352–9.

57. BAKER B.B., SLADKY K.K., JOHNSON S.M. (2001). Evaluation of the analgesic effects of oral and subcutaneous tramadol administration in red-eared slider turtles. [en ligne] *J Am Vet Med Assoc.* 15;238(2):220–7. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3158493/ [Consulté le 20 juillet 2019]

58. GIORGI M. et al. (2015) Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Assessments of Tapentadol in Yellow-Bellied Slider Turtles (Trachemys Scripta Scripta) after a Single Intramuscular Injection. [en ligne] *J Exot Pet Med.* 1;24(3):317–25. Disponible sur: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1557506315000671 [Consulté le 01 septembre 2019]

59. MANS C., SLADKY K.K. (2012) Antinociceptive efficacy of buprenorphine and hydromorphone in red-eared slider turtles (Trachemys scripta elegans).[en ligne] *J Zoo Wildl Med Off Publ Am Assoc Zoo Vet.* 43(3):662–5. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23082538 [Consulté le 04 mai 2017]

60. ROYAL L.W., et al. (2012) Evaluation of cyclooxygenase protein expression in traumatized versus normal tissues from eastern box turtles (Terrapene carolina carolina). [en ligne] *J Zoo Wildl Med Off Publ Am Assoc Zoo Vet.* 43(2):289–95. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22779232 [Consulté le 01 septembre 2019]

61. UNEY K. et al. (2016). Pharmacokinetics of meloxicam in red-eared slider turtles (Trachemys scripta elegans) after single intravenous and intramuscular injections. [en ligne] *Am J Vet Res.* 77(5):439–44. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27111010 [Consulté le 13 septembre 2018]

62. DI SALVO A. et al. (2016). Pharmacokinetic profiles of meloxicam in turtles (Trachemys scripta scripta) after single oral, intracoelomic and intramuscular administrations. [en ligne] *J Vet Pharmacol Ther*. 39(1):102–5. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26789011 [Consulté le 02 septembre 2019]

63. HEDLEY J. (2010). Anaesthesia in exotics Part 1: Reptiles. *Vet Nurs J.* 25(8):24–7. Disponible sur: http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1111/j.2045-0648.2010.tb00116.x [Consulté le 03 août 2019]

64. LAMBERSKI N. Body condition scores for desert tortoises.

65. RAWSKI M., JÓZEFIAK D. (2014). Body Condition Scoring and Obesity in Captive African Side-Neck Turtles (Pelomedusidae). *Ann An*im Sci. 30;14. Disponible sur: https://www.researchgate.net/publication/263424302_Body_Condition_Scoring_and_Obesity_in_Captive_African_Side-Neck_Turtles_Pelomedusidae [Consulté le 04 août 2019]

66. THOMSON J.A., BURKHOLDER D., HEITHAUS M.R., DILL L.M. (2009). Validation of a Rapid Visual-Assessment Technique for Categorizing the Body Condition of Green Turtles (Chelonia mydas) in the Field. *Copeia.* 12;2009(2):251–5. Disponible sur: http://www.bioone.org/doi/abs/10.1643/CE-07-227 [Consulté le 04 août 2019]

67. *Shell Conditions.* URL: http://www.redearslider.com/shell_conditions.html.

68. BOYER T. (2013). Nasal discharge in chelonians. [en ligne] *Proceeding, ARAV* . Disponible sur : http://c.ymcdn.com/sites/ members.arav.org/resource/resmgr/Files/ Proceedings_2013/02.pdf [Consulté le 15 mai 2017]

69. HUYNH M-T. (2008) *Urgences chez les reptiles.* Alfort. Ecole Nationale Vétérinaire de Maison Alfort, 226p.

70. MARTÍNEZ-SILVESTRE A, BARGALLÓ F, GRÍFOLS J.(2015) Gender Identification by Cloacoscopy and Cystoscopy in Juvenile Chelonians. *Veterinary Clin North Am Exot Anim Pract.* 18(3):527–39. Disponible sur: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/ 26095318 [Consulté le 15 mai 2017]

71. PETERSEN-FELIX S. (1998). Depth of anaesthesia. *Vet Anaesth Analg.* 25(1):4–7. Disponible sur: http://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1467-2995.1998.tb00161.x [Consulté le 07 août 2019]

72. PERRY SM, NEVAREZ JG. (2018). Pain and Its Control in Reptiles. *Veterinary Clin North Am Exot Anim Pract*. 2018 Jan 1;21(1):1–16. Disponible sur: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1094919417302013 [Consulté le 14 septembre 2018]

73. DODD J.(2010) Zoo Animal and Wildlife Immobilization and Anesthesia. *Can Vet J.* 51(6):622. Disponible sur : http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2871358/ [consulté le 05 mai 2017]

ANNEXES

Annexe 1 : Exemples de protocoles de sédation et d'anesthésie.

Protocole	Dose (mg/kg)	Voie d'administration	Commentaire sur le protocole
Sédation / prémédication			
Midazolam	1,5 (1,0 si associé)	IV / IM	Sédation légère, effets variables, réversible
Midazolam + dexmédétomidine	1+0,1	IM	Sédation légère à modérée, effets variables, réversible
Médétomidine	0,1 à 0,2	IM	Synergie avec les opioïdes et benzodiazépines
Dexmédétomidine	0,05 à 0,1	IM	Synergie avec les opioïdes et benzodiazépines
Acépromazine	1	SC / IM	Effets variables et peu concluants
Xylazine	1 à 2	IM	Peu décrit chez les chéloniens
Opioïdes	Doses et molécules décrites dans l'annexe 2 sur l'analgésie		
Anesthésie / induction +/- prémédication			
Médétomidine + kétamine	0,2 + 10	SC / IM	Anesthésie suffisante pour acte chirurgical, partiellement réversible
Médétomidine + kétamine + morphine	0,1 + 10 +1,5	SC / IM	Anesthésie suffisante pour acte chirurgical, partiellement réversible
Dexmédétomidine + kétamine + hydromorphone	0,15 + 10 + 0,5	SC / IM	Anesthésie suffisante pour acte chirurgical, partiellement réversible
Propofol	10-20	IV	Anesthésie légère, durée de 30 à 60 minutes selon la dose
Alfaxalone	20	IM	Agent d'induction, durée courte, relais gazeux recommandé
Maintenance			
Isoflurane	2-5%	Inhalation, intubation trachéale nécessaire	
Sévoflurane	2,5-8%	Inhalation, intubation trachéale nécessaire	

Annexe 2 : Molécules utilisées pour l'analgésie des tortues de Floride.

Protocole	Dose (mg/kg)	Voie d'administration	Commentaire sur le protocole
Opioïdes			
Morphine	1-2	SC / IM	q24h, bonne efficacité
Hydromorphone	0,5-1	SC / IM	q24h, bonne efficacité
Méthadone	3-5	SC / IM	q24h, bonne efficacité
Tramadol	5-10	SC / IM / PO	q48-72h, bonne efficacité, moins de dépression respiratoire qu'avec les morphiniques
Buprénorphine	0,02 – 0,2	SC / IM	Pas d'effet analgésique démontré
Butorphanol	1-8	SC / IM	Pas d'effet analgésique démontré (>10mg/kg non recommandé !)
AINS			
Méloxicam	0,2	SC / IM	q24h, efficacité clinique non évaluée
Kétoprofène	2	SC / IM (IV/SC)	q24h, étude pharmacocinétique uniquement, sur iguane vert
Anesthésiques locaux			
Lidocaïne	1-2 mg/kg, jusqu'à 4 par voie IT	Cutanée, SC, IM, IT	
Bupivacaïne	1 (rester < 2mg/kg)	Cutanée, SC, IM, IT	

Annexe 3 : Feuille d'examen clinique et d'inclusion dans l'étude.

COMPTE-RENDU D'INCLUSION DANS L'ETUDE

Tortue n° : Groupe :
Mise à jeun : date heure
Acclimatation : date heure

Examen clinique

date heure

T° ambiante pendant l'examen :

Poids :

Etat corporel :

Etat de la carapace :

Yeux :

Narines :

Cavité buccale :

Couleur des muqueuses :

Palpation abdominale :

FR :

FC à T° ambiante :

T° rectale :

Examens complémentaires

Radio :

Cystoscopie :

Prémédication

Morphine 1.5 mg/kg SC. Site : Volume :
T_p:

Alfaxalone 20mg/kg IM. Site : Volume:
T_0:

Medetomidine 0.2 mg/kg IM +
Kétamine 10mg/kg IM. Site : Volume: T_0:

Bupivacaine 2mg/kg SC. Site : Volume: T_{LA}:

Induction

Remarques :

Annexe 4: Feuille de suivi de l'anesthésie et des temps caractéristiques.

Temps caractéristiques :

T_{MR} (apparition de la flaccidité du cou) :
T_i (d'intubation) :
T_{score} (1er score ≤3) :
T_{in} (incision) :
T_{rec} (arrêt de l'isoflurane) :
T_{MT} (réapparition du tonus musculaire du cou) :
T_{ext} (extubation) :
T_{walk} (locomotion autonome) :

Monitoring en cours d'anesthésie :

Heure																										
Minutes																										
O_2 (L/min)																										
Isoflurane(%)																										
Total score Anesth 1+2+3+4+5+6+7=0-23 +0.5% si >4 -0.5% si <3																										
Total score Analg 8+9+10+11+12=0-15 +0.5% et arrêt stimulation si >2 +morphine SC si >4																										
VENTILATION A/S/C																										
Couleur muq																										
FR																										
FC																										
Température																										
1.Tonus du cou Présent:5 - Absent:0																										
2. Réflexe de retrait de la tête Présent:5- Absent:0																										
3. Mouvements des membres : Présente:5 Absente:0																										
4. Reflexe au pincement du membre Présent:3 Absent:0																										
5. Réflexe palpebral Présent:1- Absent:0																										
6. Réflexe cornéen Présent:1 Absent:0																										
7.Réflexe cloacal Présent:3- Absent:0																										
8.Reflexe au pincement profond du membre Présent: 3- Absent:0																										
9.Reflexe au picage de la queue Présent:3- Absent:0																										
10.Réponse au stimulus chirurgical Présent:5- Absent:0																										
11.Tachycardie Absence : 0 >5bpm :+1 >10bpm :+2																										
12.Tachypnée Absence : 0 >5mpm :+1 >10mpm :+2																										
REMARQUES (N°)																										

Annexe 5: Tableau Excel exploitable sous Rstudio - exemple avec les temps caractéristiques.

Tortue	protocole	TLA	Tmr	Tscore	Ti	Tinc	Trecovery	Tfindechir
1	MK	1	11	15	14	23	38	53
3	MK	5	35	50	38	55	93	93
5	MK	10	19	35	24	29	59	62
8	MK	10	13	40	33	53	88	133
10	MK	5	8	30	13	33	58	78
12	MK	6	9	35	14	27	49	49
13	MK	1	6	20	15	30	43	55
14	MK	3	14	55	17	35	65	90
16	MK	7	30	75	35	55	85	95
18	MK	10	13	45	20	33	63	115
21	MK	4	12	30	17	32	62	67
24	MK	5	10	40	20	35	70	70
26	MK	35	8	30	30	65	90	90
28	MK	15	19	70	22	70	134	134
30	MK	5	45	55	55	90	120	125
33	MK	60	45	135	60	125	170	170
35	MK	5	19	35	24	41	70	73
36	MK	71	39	70	70	93	127	127
38	MK	20	15	25	15	35	60	60
39	MK	27	15	30	20	33	46	49
40	MK	20	13	30	15	27	40	43
42	MK	15	11	30	11	31	51	51
43	MK	18	25	45	28	37	59	60
2	A	1	5	20	10	20	40	58
4	A	1	10	35	11	20	80	105
6	A	2	3	20	9	22	37	52
7	A	3	5	30	18	30	50	80
9	A	2	5	15	9	15	40	45
11	A	1	3	25	13	23	43	46
15	A	2	3	25	7	20	47	52
17	A	2	3	5	5	15	30	45
19	A	2	5	20	12	30	85	85
20	A	2	3	35	4	22	54	54
22	A	3	6	45	6	50	75	80
23	A	2	7	40	10	40	65	65
25	A	25	5	20	15	35	60	60
27	A	10	2	30	10	50	120	120
29	A	5	2	25	7	25	40	40
31	A	5	5	30	10	33	46	46
32	A	17	3	25	8	23	63	64
34	A	18	5	35	12	29	42	43
37	A	6	1	20	3	28	55	59
41	A	5	1	15	4	18	35	35

Annexe 6 : Script R pour obtenir les résultats de la comparaison entre les protocoles pour Tmr.

```
#TMR#
stripchart(log(a$TFl)~a$protocole,vertical=TRUE,method="stack")
g1<-boxplot(log(TFl) ~ protocole, data = a, xlab = "Protocole", ylab = "Relaxation musculaire (Tmr en log)"
        , names = c("alfaxalone", "médétomidine-kétamine"), col=blues9)
g1   # affiche graphe 1#
qplot(a$protocole, log(a$TFl), colour = a$protocole) +
  stat_summary(fun.y = mean, geom = "line")
tapply(log(a$TFl), a$protocole, qqnorm) #se rapproche d'une distribution normale
t.test(log(TFl) ~ protocole, data=a)
m<-lm(log(TFl) ~ protocole, data=a) # régression linéaire sur les temps en log
summary(m)
coef(m)
exp(coef(m)[2]) #retour aux temps en minutes grâce à l'exponentielle
```

Annexe 7: Données de la console R,exemple du résultat pour Tmr : le temps de relaxation musculaire est 4,5 fois plus grand avec le protocole MK qu'avec l'alfaxalone.

```
> coef(m)
(Intercept) protocoleMK
   1.264214    1.508254
> exp(coef(m)[2]) #retour aux temps en minutes grâce à l'exponentielle
protocoleMK
   4.518835
>
```

Annexe 8: Protocole de réanimation en cas d'incident anesthésique ou de complications lors du réveil d'anesthésie.

Soin d'urgence		Indication
Ventilation	**- 3 respirations par minute**	Apnée prolongée
Atropine	**0.4mg/kg IV**	Bradicardie extrême induite par l'anesthésie
Doxapram nasal	**4.5mg/kg IV ou en instillation**	Stimuler la respiration
Furosémide	**2mg/kg IM**	Si la trachée semble encombrée de fluides

Opération réalisée sous anesthésie générale, cœliotomie avec abord inguinal :

- Tortue placée **décubitus latéral**.
- **Désinfection** du site d'incision (fosse préfémorale)
- Champ stérile placé sur l'animal + fixé à l'aide de pinces à champ.
- **Incision** cutanée horizontale crânio-caudale réalisée au centre de la fosse préfémorale à l'aide d'un bistouri.
- **Dissection** du tissu sous-cutané et des muscles afin de visualiser la membrane cœlomique, qui est incisée.

Remarque : La vidange préalable de la vessie diminue le risque de percer celle-ci lors de la chirurgie et permet une meilleure visualisation des autres organes.

La grappe ovarienne, de taille variable selon les individus, se trouve en regard de l'incision, en profondeur, sous les viscères digestifs, non loin du foie. Il y a une grappe ovarienne de chaque côté de l'animal, symétriques, et il est généralement nécessaire d'opérer l'animal par les deux flancs afin d'extérioriser les deux grappes par leur côté respectif. Cette chirurgie se fait en deux temps.

Figure 28: Ligature en masse de la grappe ovarienne gauche chez une tortue de Floride. © Laurène Gantner

- **Extériorisation** de la grappe ovarienne à l'aide de pinces mousse
- **Ligature** en masse à la base de la grappe
- **Section** de la grappe à l'aide du bistouri.

- **Suture** des plans musculaires et cutanés par un surjet simple (fil tressé résorbable 3.0).

- Ajout de colle chirurgicale sur la suture pour assurer l'étanchéité totale de la plaie, et de limiter les risques d'infection lors de la remise à l'eau des tortues.

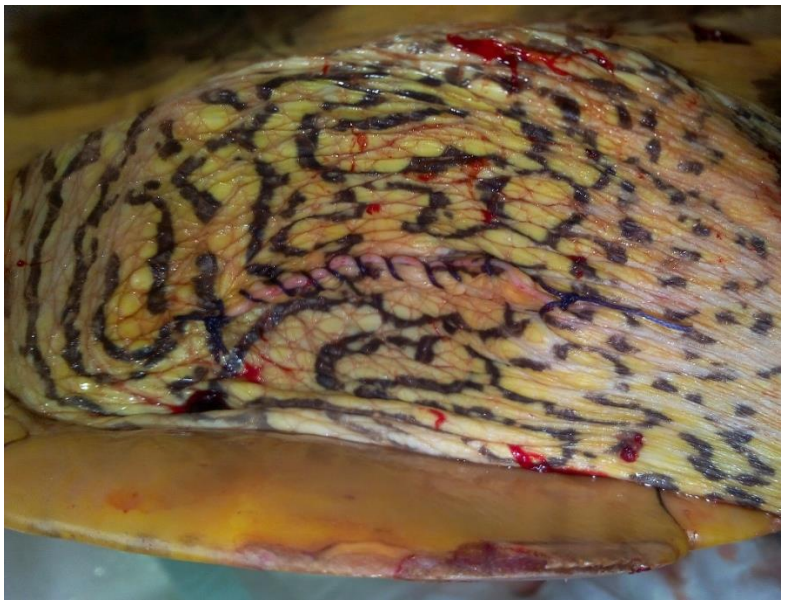

Figure 29 : plaie d'ovariectomie après fermeture par surjet simple. © Laurène Gantner

Complications courantes directement liées à la chirurgie :

- **Rupture de la paroi vésicale**. Très fine, elle est facilement incisée lorsqu'elle est sous tension. Une vidange préalable de la vessie (sondage par endoscopie) permet d'éviter cet écueil.

- **Hémorragies internes** : de nombreux vaisseaux de taille importante passent non loin des grappes ovariennes, et le foie se trouve également à proximité de ces structures. Le manque de visibilité dans la cavité cœlomique pousse à effectuer certains gestes « à l'aveugle », ce qui est risqué. Une lampe frontale ou un endoscope peuvent être utilisés pour **éclairer et visualiser** les parties les plus profondes de la cavité cœlomique afin de trouver la grappe ovarienne, parfois de très petite taille.

GANTNER Laurène

COMPARAISON DE L'ALFAXALONE A L'ASSOCIATION MEDETOMIDINE KETAMINE POUR L'INDUCTION DE L'ANESTHESIE SOUS ISOFLURANE CHEZ LA TORTUE DE FLORIDE (TRACHEMYS SCRIPTA SP.) OPEREE D'OVARIECTOMIE

Thèse d'Etat de Doctorat Vétérinaire : Lyon*, le 06 décembre 2019*

RESUME :

Cette étude prospective randomisée visait à comparer les effets de deux protocoles d'induction d'anesthésie administrés par voie intramusculaire (I.M.) chez 43 tortues de Florides dans le cadre de leur ovariectomie. Les tortues ont été réparties aléatoirement en un groupe A (n=20) induit avec 20mg/kg I.M. d'alfaxalone et un groupe MK (n=23) induit avec de la médétomidine 0,2mg/kg I.M et de la kétamine 10mg/kg I.M. L'anesthésie a été maintenue avec de l'isoflurane (3% ajustés selon un score de neuro-dépression) dans 100% d'O_2. L'analgésie a été couverte et un score de douleur établi. La fréquence cardiaque a été monitorée et des temps caractéristiques à l'anesthésie ont été relevés. Les résultats et valeurs p-prédictives ont été obtenus à l'aide de t-test réalisés après une transformation logarithmique des temps.

Les temps de relaxation musculaire, d'intubation trachéale, d'incision cutanée (réalisée dès que le score de neuro-dépression devenait inférieur à 3) étaient respectivement 4,5 ; 2,8 et 1,7 fois plus petits pour le groupe A que pour le groupe MK. (p-values respectives : $1{,}5 \times 10^{-10}$; $p= 3{,}2 \times 10^{-8}$; $p=9.7 \times 10^{-4}$). Il n'a pas été possible de mettre en évidence de différence significative pour les temps de réveils en raison de temps de chirurgie très variables.

L'alfaxalone permet une induction plus rapide et plus fiable que l'association médétomidine-kétamine aux doses étudiées.

MOTS CLES :

- Anesthésie
- Tortue de Floride
- Analgésie
- Ovariectomie
- Kétamine
- Prémédication

JURY :

Président : Monsieur le Professeur Vincent PIRIOU

1er Assesseur : Madame le Professeur Karine PORTIER
2ème Assesseur : Madame le Docteur Magalie RENE-MARTELLET

Membre invité : Monsieur le Docteur Benoît QUINTARD

DATE DE SOUTENANCE : le 6 décembre 2019