



Formation à l'Expérimentation Animale

Auteur: Abeer El Wakil

2009/2010

Auteur :

Abeer ELWAKIL, Ph.D.

Institut de Pharmacologie Moléculaire et Cellulaire

CNRS UMR 6097

FRANCE

2009/2010



Interventions chirurgicales sur les animaux, anesthésie et euthanasie

A) Les procédures chirurgicales en expérimentation animale

(D'après l'étude et propositions de N. Chapuis-Lucciani et P. Lucciani – février 1994)

Définitions - essai de classification:

Ne sont considérées comme des procédures chirurgicales:

Toutes les interventions et manipulations pour lesquels une induction anesthésique n'est pas requise.

Toutes les interventions et manipulations qui, sur animal anesthésié (quelque soit le type ou niveau d'anesthésie), entrent dans le cadre des protocoles d'examen et de soins, à la condition qu'elles restent très superficielles, qu'elles ne nécessitent pas de suivi post-opératoire particulier et qu'elles n'engendrent pas de déficit organique ou fonctionnel majeur (déficit moteur, sensitif ou physiologique).

Dans ce cadre, entrent:

- Les ponctions intracavitaires, les prélèvements sanguins sur vaisseaux périphériques, les ponctions cardiaques chez les rongeurs et lagomorphs, les cathétérismes, les canulations des vaisseaux périphériques, la pose de drains, la mise en place d'électrodes en plan sous cutané ou musculaire, les biopsies simples, les transfusions, les sutures de plaies superficielles....
- Toutes les formes d'injections (intraveineuse, sous-cutanée, intramusculaire) à l'exception des injections intraventriculaires (intracérébrales).
- Les interventions à but nécropsique sur animal placé en anesthésie profonde suivie d'euthanasie (prélèvements d'organes – perfusions cérébrales

Sont considérées comme des procédures chirurgicales:

Les interventions impliquant:

- une anesthésie locale, régionale ou générale de l'animal.
- Une préparation opératoire.
- Une approche technique précise.
- Un suivi post-opératoire (à l'exception des interventions en conditions aiguës).

A ce titre figurent:

a) les interventions dites de petite chirurgie :

- Castrations de mâles, ovariectomies, trachéotomies, vasectomies, poses d'électrodes sur champ ouvert
- Toutes les biopsies exérèses.

b) les interventions dites de chirurgie lourde :

- Toutes les exérèses glandulaires (thyroïdectomies, parathyroïdectomies, thymectomies, adrénaléctomies ...)
- Les ablations d'organes (splénectomies, hépatectomies, lobectomies pulmonaires, néphrectomies ...)
- Les laparotomies.
- Les opérations de chirurgie digestive (chirurgie de l'oesophage, pose de fistules gastriques et intestinales, jéjunostomies, entérotomies, pose de fistules pancréatiques, chirurgie du foie, du système biliaire ...)
- L'induction de péritonites expérimentales par abord chirurgical.

- Les interventions de chirurgie vasculaire (anastomoses, pontages, accès au canal thoracique ...)
- Les thoracotomies et interventions en cavité thoracique.
- Les transplantations tissulaires et transplantations d'organes (reins – coeur – tissus embryonnaires – cornée – os – peau ... en homo ou hétéro-transplantations).
- Toute la chirurgie oculaire, y compris les sutures palpébrales.
- La chirurgie de l'oreille, et notamment de l'oreille interne.
- La chirurgie rénale et des voies urinaires (anastomoses, transplantations d'uretères, cystotomies, uréthrotomies ...)
- La chirurgie des appareils génitaux (prostatectomies, hystéro ou hystérectomies avec ou sans ablations ovariennes ...)
- La chirurgie osseuse et articulaire.
- La chirurgie cardiaque (accès aux cavités, valvules, coronaires ...)
- Toutes les interventions de chirurgie nerveuse ou neurochirurgie (accès au SNC et aux systèmes autonomes: sympathectomies et parasympathectomies, hypophysectomies, ventriculographies et injections intraventriculaires, pose de chambres pour accès cortical, mise en place d'électrodes permanentes fixées sur plots, toute induction de lésions des structures centrales y compris corticales, sutures nerveuses, chirurgie vasculaire cérébrale ...)

c) Enfin, toutes les interventions pratiquées en conditions aiguës :

Les compétences en matière chirurgicale étant aussi exigibles que lors d'interventions en conditions "chroniques" – la bonne connaissance des sites anatomiques et la précision des actes doivent être requises dans les 2 types d'interventions.

B) Anesthésie

I- Définition: l'anesthésie peut se définir par l'état dans lequel l'individu est dans l'incapacité de percevoir des sensations. Elle peut être qualifiée générale, locale, tronculaire, ou épidurale suivant l'interromption de la transmission du message sensitif et douloureux au niveau de l'encéphale, des récepteurs, des fibres afférentes, ou de la moelle épinière respectivement. Actuellement, l'anesthésie générale se définit comme un état clinique obtenu au moyen de produits médicamenteux et qui se caractérise par quatre états: l'analgésie, la narcose, la myorésolution et la protection du système neuro-végétatif. **L'analgésie** est l'absence de perception de la douleur. Elle joue un rôle très important dans la prévention des complications pré- et post-opératoires comme le choc opératoire

La **narcose** est la perte de conscience, à ne pas confondre avec la sédation qui permet d'atteindre un état de calme, sans influence sur l'état éveillé, ni avec l'hypnose qui correspond à un sommeil artificiel. Elle peut être remplacée, avec certain anesthésique par un état de « déconnexion » vis-à-vis du milieu extérieur (ataraxie).

La **myorésolution** est le relâchement du système musculaire. Elle doit être aussi parfaite que possible pour permettre un accès facile aux structures profondes et pour éviter que le tonus musculaire complique le travail de l'opérateur.

La **protection du système neuro-végétatif** correspond à la mise au repos de ce système afin de limiter, au maximum, les réactions de l'organisme qui font intervenir les systèmes

sympathique et parasympathique. Parmi ces réactions, il peut y avoir des arrêts réflexes de la respiration (apnées), ou des battements cardiaques (syncopes).

Certain produit provoquent une anesthésie dissociative. Ces substances chimiques, tout en interrompant la transmission d'informations de la partie inconsciente vers la partie consciente du cerveau, stimulent certaines régions du cerveau plutôt que de les déprimer.

II- Indications de l'anesthésie:

La raison primordiale pour l'utilisation d'une anesthésie est éthique: toute personne utilisant des animaux dans des expériences doit obligatoirement être capable de reconnaître un animal qui souffre, de minimiser cette douleur par des mesures préventives et de les contrôler en utilisant des produits analgésiants ou anesthésiants. Cette obligation est renforcée en France par une législation spécifiée dans le Décret 87-848 du 19 octobre 1987.

La deuxième raison est scientifique: le souci de se mettre à l'abri d'interférences qui peuvent perturber les résultats. La troisième est la technicité de la procédure: certaines interventions ne nécessitent qu'une simple contention, d'autres ne peuvent se faire que sous respiration artificielle.

L'amélioration des techniques d'anesthésie doit être considérée comme un aspect essentiel du raffinement des méthodes expérimentales. Il est important de reconnaître qu'une mauvaise technique peut avoir des effets néfastes sur la qualité des résultats obtenus et il appartient donc au chercheur de revoir régulièrement sa technique d'anesthésie et d'introduire des améliorations chaque fois que nécessaire. S'il y a indication pour l'anesthésie, il conviendra de sélectionner avec précaution une technique n'interférant pas avec le système étudié ou avec les réponses de l'animal préconisées. En effet, les agents anesthésiques peuvent avoir des effets inhérents sur les systèmes physiologique, neurologique, immunologique et pharmacologique, modifiant ainsi les résultats obtenus.

III- Propriétés des anesthésiques généraux

Les anesthésiques généraux sont des substances dont l'affinité pour le système nerveux est liée à une forte liposolubilité. Ils diminuent l'excitabilité des neurones cérébraux, bloquent la transmission des influx nerveux dans l'encéphale, soit en agissant sur la libération des neuromédiateurs, soit en bloquant leur recaptage, soit en se fixant compétitivement sur les récepteurs. Parmi les neuromédiateurs, dont la physiologie est ainsi affectée, on peut citer l'acétylcholine (Ach), la noradrénaline, la dopamine, la sérotonine (5-HT), l'acide gamma amino butyrique (GABA) et les acides aminés. Les sites d'action majeurs des anesthésiques sont les centres corticaux (néocortex et corps striés) et la formation réticulée. L'action des anesthésiques généraux sur ces sites s'étalent dans le temps : en premier ils agissent sur les centres corticaux puis sur les éléments rostraux de la formation réticulée (formation diencephalique et mésencéphalique = système réticulé descendant activateur ou SRDA) et enfin sur les éléments caudaux de la formation réticulée (formation réticulée bulbo-pontique = système réticulé descendant inhibiteur ou SRDI). Ceci détermine la chronologie de leurs effets et la distinction de

quatre stades : le stade I de l'**analgésie**, le stade II de l'**excitation**, le stade III de l'**anesthésie** et le stade IV **toxique**.

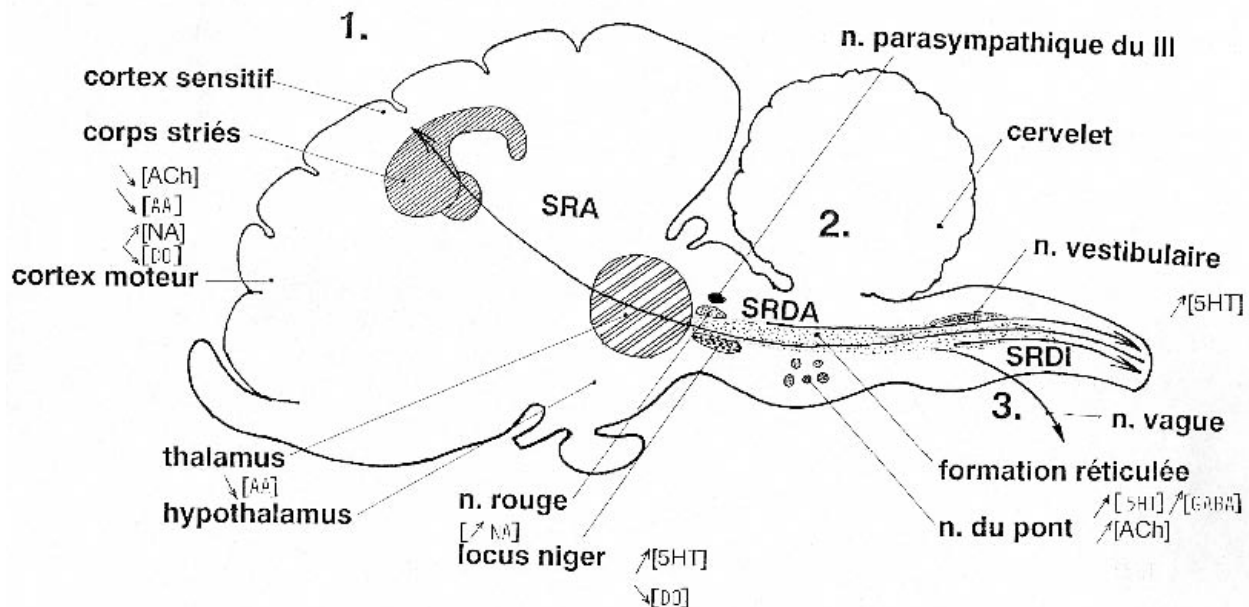


Figure 6: Ajouter une légende qui expliquerait les flèches et les chiffres

Durant le **stade I**, l'action sur les centres corticaux entraîne une abolition des fonctions sensorielles et de la sensibilité extéroceptive épicrotisque (faisceaux gracile et cunéiforme), aboutissant à la perte de conscience. Elle s'accompagne d'une inhibition de la sensibilité proprioceptive consciente (faisceaux gracile et cunéiforme) et des voies de la motricité volontaire (voies pyramidales), aboutissant à une perte de la mobilité vigile et d'une dérégulation de la température (hypothermie). Elle permet la libération des centres sous-corticaux dont le noyau parasympathique du nerf III ce qui entraîne un myosis.

Durant le **stade II**, la libération des centres sous-corticaux entraîne une stimulation du SRDA ce qui se traduit par une augmentation de la motricité semi-volontaire et automatique (tractus réticulospinal, rubrospinal et vestibulospinal). La stimulation du SRDA agit sur les centres médullaires sympathiques qui sont au contact des fibres réticulospinales et sur la médullosurrénale entraînant une irrégularité de la respiration et faisant apparaître une midriase. Les noyaux mésencéphaliques des nerfs oculomoteurs placés en contact avec la formation réticulée sont également stimulés ce qui se traduit par une augmentation de la motricité oculaire (nystagmus).

Durant le **stade III**, les éléments rostraux puis caudaux de la formation réticulée sont successivement inhibés. La neutralisation, en premier, du SRDA entraîne une libération du SRI. On observe alors une

inhibition de la sensibilité extéroceptive protopathique et nociceptive (tractus spinothalamique) aboutissant à l'anesthésie, une inhibition de la motricité semi-volontaire et automatique, aboutissant à une myorésolution. Les centres médullaires sympathiques sont également inhibés ce qui laisse apparaître un myosis. Les fibres pontiques épicrotiques du nerf ophtalmique (nerf infratrochléaire), se terminant dans la colonne somatoceptive au voisinage du SRDA, sont également neutralisées: disparition du réflexe oculopalpebral. Les centres thermorégulateurs hypothalamiques sont affectés renforçant ainsi l'hypothermie. A ce stade, le réflexe laryngé disparaît avec le risque d'une fausse déglutition si l'animal vomit. Progressivement le SRDI est affecté.

Durant le **stade IV**, la motricité est totalement abolie, les centres bulbaires vagues et respiratoires sont neutralisés ce qui entraîne une midriase et surtout une apnée. A ce stade, les fibres protopathiques du nerf ophtalmique (nerfs ciliaires longs), qui se terminent dans la colonne somato-ceptive bulbaire, sont également neutralisées: disparition du réflexe cornéen.

IV- Préparation et surveillance de l'anesthésie.

Le risque majeur de l'anesthésie est l'apnée qui précède la syncope. Pour prévenir ces accidents, on procède préalablement à l'anesthésie, à une préparation et à un examen clinique de l'animal, à une préanesthésie et à une surveillance de l'animal durant l'anesthésie.

La préparation et l'examen de l'animal:

La mise à la diète, avant l'anesthésie, permet d'éviter les fausses déglutitions: diète hydrique de 6 heures chez les rongeurs, de 12 heures chez les carnivores, diète solide de 12 heures et diète hydrique de 6 heures chez le porc, diète hydrique de 24-48 heures chez les ruminants. Lors de l'examen clinique pré-anesthésique, on relève tout particulièrement le fonctionnement du cœur et de l'appareil respiratoire et la température centrale.

La préanesthésie:

Actuellement, il n'existe pas d'anesthésiques généraux qui permettent d'obtenir la narcose, l'analgésie, la myorésolution et la protection neurovégétative. L'emploi de préanesthésiques, 20 à 30 min avant l'anesthésie proprement dite, permet de renforcer et de compléter les effets de certaines molécules tout en essayant de corriger certains effets secondaires néfastes.

Le rôle et l'utilité de la préanesthésie est:

- de réduire les sécrétions salivaires et bronchiques
- de désamorcer les réflexes neurovégétatifs dangereux
- de prévenir les vomissements préopératoires
- de provoquer une sédation de l'animal qui est un facteur de sécurité et qui facilite la suite de la manoeuvre
- de potentialiser l'action des anesthésiques généraux
- de favoriser un réveil non agité

- de renforcer l'analgésie
- d'accentuer la myorésolution.

Les tranquillisants produisent un effet calmant sans pour autant induire une sédation. A dose forte, une ataraxie et une dépression sont des effets attendus, bien que les animaux soient aisément éveillés. Ceci se produit surtout en réponse de stimuli douloureux étant donné que ces produits n'ont pas de propriétés antalgiques. Parmi ces composés, on distingue les tranquillisants majeurs ou neuroleptiques (phénothiazines et butyro-phénonés) et les tranquillisants mineurs ou anxiolytiques (benzodiazépines).

La surveillance de l'animal pendant l'anesthésie:

Pendant l'opération on surveille:

- la perte de l'équilibre, et des réflexes posturaux = stade d'anesthésie débutante
- le nystagmus (inconstant) = passage à l'anesthésie chirurgicale (ou au contraire début du réveil)
- l'insensibilité au pincement des oreilles, de la queue et des espaces interdigités = anesthésie chirurgicale (début)
- l'abolition du réflexe d'extension du membre au pincement de la corde du jarret (lapin) ou à la percussion du ligament patellaire chez les grands animaux (réflexe rotulien) = anesthésie chirurgicale correcte
- la disparition du réflexe oculo-palpébral. Attention, il est difficile à tester et peu fiable chez les petites espèces - la persistance du réflexe cornéen = stade toxique - la surveillance de la fréquence de la respiration (danger si chute de 40% = stade toxique; si accélération = réveil ou excès de CO₂ veineux si anesthésie volatile)
- la couleur des muqueuses (blanches ou danger de syncope et d'apnée)
- la température centrale (risque d'hypothermie)

V- Agents de l'anesthésie générale.

En fonction du mode d'administration, on distingue des anesthésiques fixes administrés par voie parentérale et des anesthésiques volatils que le sujet va inhaler.

Pour augmenter la sécurité de l'opération, il peut être nécessaire de placer l'animal sous assistance respiratoire. La technique classique est d'intuber l'animal.

Plusieurs règles doivent être respectées :

- utiliser un matériel adapté (diamètre de la sonde trachéale et volume respiratoire procuré par le matériel de ventilation...)
- placer la sonde d'intubation avec soin (sonde lubrifiée, anesthésie locale du pharynx, placement par une personne qualifiée) et vérifier l'étanchéité (ballonet gonflable)
- ôter la sonde d'intubation au moment opportun en fin d'opération mais avant la phase de réveil.

VI- Choix de l'anesthésique.

Différents facteurs sont à prendre en considération lors du choix de l'anesthésique à utiliser:

- L'espèce, la souche, et éventuellement le tempérament de l'animal (quelques exemples connus sont: l'apparition d'un choc chez les cobayes lors d'induction de l'anesthésie à l'éther; le développement d'un syndrome de diabète insipide chez le rat Fisher après l'anesthésie au méthoxiflurane.

- le bien-être de l'animal: certaines procédures peu douloureuses ne justifient que l'emploi d'agents provoquant une anesthésie légère.

- la durée de l'anesthésie: chez un animal destiné à survivre à l'anesthésie, l'administration d'un anesthésique fixe ne permet qu'une anesthésie de quelques minutes à 1 heure. Pour maintenir l'anesthésie au delà de cette durée, il faudra soit procéder à une anesthésie volatile, soit répéter les injections de l'anesthésique fixe ou distribuer ce dernier par perfusion. Les molécules faiblement métabolisées et rapidement redistribuées se prêtent bien à la pratique du maintien de l'anesthésie. Elles évitent les réveils de trop longue durée. Le protocole idéal est la perfusion intraveineuse de propofol. On peut également retenir la perfusion du mélange kétamine/xylazine/guaïfenesine ou du mélange alfentyl/midazolam complétée par des injections itératives d'alcuronium.

- les moyens et l'expérience: l'administration d'un anesthésique fixe peut comporter moins de risques qu'une anesthésie volatile faite par une personne non expérimentée.

- l'état de santé et les risques pour l'animal: en cas de maladie ou de vieillesse, une adaptation de la dose d'anesthésique sera nécessaire. Exemple: une acidose sanguine due à l'action dépressive respiratoire ou lors d'administration associée de solutés acidifiants (glucose) favorise la prédominance de la forme liposoluble des barbituriques; pour une même dose, l'anesthésie sera donc plus profonde, pouvant entraîner des problèmes. Sans prémédication au diazepam, le réveil sera Très violent chez l'épileptique après l'utilisation de méthohexital. En cas de pathologie hépatique ou rénale, la durée de l'anesthésie pourra être accrue en relation avec un défaut d'élimination du produit.

- l'état de santé de l'expérimentateur: l'éther est explosif et les dérivés halogénés sont hépatotoxiques.

C) Euthanasie

I- Définition: l'euthanasie est l'acte de mettre fin à la vie d'un animal par une méthode qui entraîne le minimum de stress et de douleur.

II- Raisons de l'euthanasie :

Les décisions d'euthanasie devraient être en nombre aussi réduit que possible, tout d'abord en essayant d'équilibrer la production et/ou commande des animaux, ensuite en programmant les expériences avec rigueur, comme prescrit par le décret 87-848 du 19/10/87 en France: "elles revêtent un caractère de nécessité". Il faut rappeler que l'euthanasie des animaux en fin d'expérience doit être justifiée par l'expérimentateur (il est tout à fait possible d'adopter un animal de laboratoire en bonne santé à l'issue d'une expérience qui ne nécessite pas d'euthanasie). En revanche, il faut tenir compte de la règle "ne pas infliger 2 expériences douloureuses à un même animal". Pour des raisons de traçabilité des animaux de laboratoire, le devenir de l'animal doit être clairement consigné (registre obligatoire d'entrée / sortie d'animalerie).

Les raisons de l'euthanasie peuvent néanmoins être très diverses:

- Nécessité du protocole expérimental (réalisation d'une autopsie, prélèvements de tissus et organes vitaux ou lésions chirurgicales non guérissables..). Il faut rappeler que dans le cas d'une chirurgie, l'euthanasie doit être procédée durant l'anesthésie si le réveil n'est pas nécessaire ou que la douleur occasionnée ne sera pas contrôlable. Il est de plus en plus courant que le recours à l'animal se limite à le commander auprès d'un fournisseur déclaré et à procéder à une euthanasie pour prélever des organes, tissus ou cellules pour des études *in vitro* (certains fournisseurs proposent eux-mêmes des tissus, ce qui permet de réduire le nombre d'animaux en augmentant le nombre de tissus utilisés à partir d'un même animal).
- Animal accidenté ou présentant des lésions / symptômes incurables en cours de protocole: les endpoints (= limites expérimentales) sont les critères cliniques, physiologiques et comportementaux que l'expérimentateur doit définir au cours de son protocole, conduisant à une euthanasie pour éviter de conserver plus longtemps un animal dont le devenir est compromis et qui pourrait subir une souffrance élevée.
- Animal ayant subi une infection expérimentale par un agent pathogène de l'homme ou de l'animal, ou par un microorganisme génétiquement modifié (études bactériologiques, virologiques, parasitologiques), et animal modifié génétiquement (souris transgéniques de classe II): dans ces 2 cas des précautions spéciales peuvent être nécessaires pour limiter le risque biologique pendant et après l'euthanasie et pour l'élimination des cadavres.
- Animal non-utilisé: surplus d'élevage, stocks de laboratoire dont l'utilisation n'est plus possible pour différentes raisons (poids, sexe, âge)
- Animal très âgé (difficultés de cohabitation avec des plus jeunes..) ou présentant un trouble comportemental (animal très dominant agressif pour ses congénères...)
- Animal spontanément malade: quoique ce cas devienne de plus en plus rare dans les conditions sanitaires actuelles, l'euthanasie peut être nécessaire pour éviter la transmission épidémique (ex : mycoses des amphibiens).

III- Règles de l'euthanasie :

Lorsque l'euthanasie est une nécessité expérimentale, le choix de la méthode la plus adaptée peut varier selon 2 principaux facteurs:

- les contraintes expérimentales (type de prélèvement, lésions provoquées par la méthode d'euthanasie, présence ou non d'un produit d'euthanasie..)
- les contraintes liées à l'espèce, à l'âge et au nombre d'individus

Cependant dans tous les cas, l'euthanasie des animaux de laboratoire doit répondre à un certain nombre de règles aussi bien pour l'animal que pour l'expérimentateur.

- Pour l'animal, l'euthanasie doit être non anxiogène, indolore et doit produire une perte de conscience instantanée et une mort très rapide. Une première précaution à prendre consiste donc à

éviter la peur chez l'animal. Il est impératif que le chercheur ou le technicien reste conscient qu'il a affaire à un être vivant, doué de sensibilité, d'intelligence et d'instinct. Tout sacrifice d'animaux doit se réaliser à l'écart des congénères dans un local spécifiquement dédié à cet objectif. Chaque animal doit être traité individuellement autant que possible.

- Pour l'expérimentateur, la méthode doit être sans danger, et ne pas provoquer un choc émotionnel.
- Pour l'expérience, le moyen choisi ne doit pas avoir pour conséquence des modifications histologiques ou biologiques incompatibles avec les données attendues de l'essai.

IV- Choix de la méthode d'euthanasie :

La convention Européenne nous précise que "les animaux doivent être sacrifiés selon une méthode humanitaire".

Les critères déterminants d'une mort humanitaire sont:

- capacité de produire la mort sans souffrance et avec le minimum de stress pour l'animal
- temps nécessaire pour l'induction d'un état d'inconscience - temps nécessaire pour l'apparition de la mort
- fiabilité de la méthode et irréversibilité: l'expérimentateur doit s'assurer de la mort de l'animal (individuellement si euthanasie d'un groupe d'animaux): absence de tout réflexe (le relâchement des sphincters est possible mais pas systématique), arrêt respiratoire et cardiaque (constatation par auscultation), rigidité cadavérique. Une alternative est de doubler la procédure d'euthanasie (exsanguination ou dislocation cervicale sur animaux euthanasiés par surdosage anesthésique ou inhalation de CO₂).
- sécurité du personnel
- effet émotionnel sur l'opérateur
- compatibilité avec les impératifs de l'expérience, et en particulier avec les nécessités d'évaluation histopathologique; il existe plusieurs publications qui détaillent les altérations tissulaires liées à la méthode d'euthanasie.
- faisabilité économique
- disponibilité des produits et risque d'abus

Lorsqu'il n'y a pas de contre-indication liée aux besoins expérimentaux (absence de produits chimiques dans les tissus..), la méthode de choix est le surdosage anesthésique (de préférence par injection de barbituriques). Il existe des produits d'euthanasie vétérinaire qui sont des solutions concentrées de barbituriques, mais leur usage est réservé à des personnes compétentes (injection intraveineuse en respectant une surveillance cardiorespiratoire pour que la perte de conscience précède l'arrêt respiratoire).

On peut distinguer des méthodes physiques et des méthodes chimiques:

a) Les méthodes physiques:

Appliquées correctement par un personnel bien entraîné, elles sont généralement parmi les méthodes les moins stressantes qui provoquent très rapidement l'inconscience chez l'animal, mais aussi une réaction émotionnelle importante de la personne qui les réalise. Au contraire, elles risquent d'induire des souffrances importantes chez l'animal en cas de réalisation mal effectuée. Elles reposent sur le sectionnement de la moelle épinière ou sur une destruction plus ou moins grande du système nerveux central. Les techniques à utiliser varient légèrement suivant l'espèce en question et il est bon de se rapporter à une littérature détaillée pour chaque espèce.

- **Choc cranial:** L'application d'un fort coup sur la tête entraîne une inconscience ou même la mort, en fonction de l'animal en question et de l'importance du coup. Cette technique n'est pratiquement utilisable que chez les sujets dont la boîte crânienne est assez fine (chatons, cobayes, lapins, oiseaux...) et ne présentant pas de problèmes de contention. Méthode tolérée pour rongeurs <250g, oiseaux <250g et vertébrés à sang froid.
- **Dislocation cervicale:** La technique mène à la séparation de la moelle du cerveau. Ne doit être pratiquée que sur des animaux dont la masse musculaire est faible car d'importantes contractions musculaires peuvent parfois être observées. Méthode tolérée pour poissons <250g, rongeurs <500g, lapins et oiseaux <1kg.
- **Décapitation:** Utilisée pour les petits animaux, la décapitation doit être réalisée en une fois en s'assurant que l'animal ne puisse pas bouger. Sauf contre indication expérimentale motivée les animaux doivent subir une sédation préalable.
- **Electrocution:** méthode peu utilisée en laboratoire, qui doit être exécutée en deux temps : le courant doit nécessairement passer d'abord par le cerveau pour anesthésier l'animal (faible voltage) et éventuellement après, par le coeur pour le tuer (voltage beaucoup plus élevé). Pour l'application de cette méthode, un matériel adéquat doit être utilisé.
- **Congélation:** Le froid est utilisé pour les animaux à sang froid (poïkilotherme) de manière à diminuer leur métabolisme (quelques heures à 4°C) soit pour pouvoir les manipuler, soit avant de les congeler. Pour les animaux de petites tailles (foetus, souris...), une congélation immédiate peut être obtenue en plongeant leur tête dans de l'air ou de l'azote liquides. Vu la taille de l'animal et la température, la mort est quasi instantanée. Méthode autorisée pour amphibiens et poissons <250g
- **L'irradiation par micro-ondes:** récemment, des appareils ont été conçus pour l'euthanasie immédiate des rongeurs avec l'envoi d'un faisceau dirigé à la base du cerveau (permettant de conserver l'intégrité du cerveau). Ces appareils sont utilisés en neurosciences. Toute autre méthode est proscrite car entraînant des lésions et douleurs avant la perte de conscience.

b) Les méthodes chimiques:

L'agent responsable de la mort des sujets peut être inhalé. Toutefois seuls des produits qui provoquent une perte de conscience rapide doivent être utilisés pour éviter l'anxiété causé par un produit détectable (odeur...) ou provoquant un trouble respiratoire (apnée réflexe). Cette voie d'administration se prête parfaitement à l'euthanasie d'un grand nombre de sujets, surtout ceux de petite taille (petits mammifères, oiseaux, reptiles, amphibiens...). La méthode est toutefois déconseillée pour les espèces qui sont capables d'apnée de longue durée (lapins,

oiseaux et mammifères aquatiques...), et en particulier déconseillée chez tous les nouveaux-nés.

Un certain appareillage est cependant indispensable. Un produit ainsi administré peut facilement s'échapper et polluer ainsi l'environnement ou arriver au contact de l'opérateur, l'exposant ainsi à un éventuel danger. Il faut donc s'assurer d'une bonne ventilation dans le local pour diminuer les risques encourus par l'utilisateur. Les gaz provenant de bonbonnes sont, en général très secs, ce qui peut entraîner une irritation chez les animaux; une humidification de l'air ambiant est souvent souhaitable.

Toute une série de produits peut être administrée directement aux animaux et ce par différentes voies. Les voies orales et rectales sont peu conseillées parce qu'elles sont très lentes et à résorption variable. L'injection intraveineuse est la voie d'administration donnant l'effet le plus rapide, elle est également la seule pouvant être utilisée pour les produits irritants. Les injections intracardiaque et intrathoracique peuvent être douloureuses et doivent être réalisées sur un animal préalablement anesthésié.

Agents gazeux anesthésiques:

- L'isoflurane en surdose permet une euthanasie correcte - Attention au risque encouru par l'expérimentateur (Il faut piéger les gaz à la sortie des bacs).

- Le Chloroforme et l'éther qui étaient couramment utilisés sont à proscrire compte tenu des risques qu'ils font courir à l'expérimentateur (Le chloroforme est hépatotoxique, carcinogène et néphrotoxique et l'éther inflammable et explosif).

- Protoxyde d'azote : efficace

Agents gazeux non anesthésiques:

- Le monoxyde de carbone: à rejeter car il présente des problèmes de sécurité pour l'utilisateur.

- L'Azote et l'Argon ne produisent pas de narcose avant l'asphyxie. Il n'y a pas de justification pour les préférer au CO₂

- Le gaz carbonique: à basse concentration (jusqu'à 10%) est un stimulateur des centres respiratoires et de ce fait augmente le taux de ventilation et provoque une détresse respiratoire. A la concentration de 40%, il produit une anesthésie qui se manifeste lentement et qui est accompagnée d'excitation. Le CO₂ est peu efficace sur les nouveaux-nés ou les animaux plongeurs.

Agents pharmacologiques injectables :

La majorité des drogues couramment utilisées pour les anesthésies sont acceptables à condition que la surdose soit bien ajustée. La voie intraveineuse est préférable. Si le produit n'est pas irritant la voie intrapéritonéale est efficace. Il faut mentionner que les autres voies (IM, SC...) sont difficiles à utiliser compte tenu du volume trop grand à injecter.

- L'hydrate de chloral produit une dépression progressive du centre respiratoire. Il ne doit pas être utilisé chez le chien et le chat mais il est très efficace chez les oiseaux. Pour les gros animaux la combinaison d'hydrate de chloral, de sulfate de magnésium et de pentobarbital de sodium est acceptable.

- La kétamine est très difficile à utiliser à cause de son effet dissociant et les surdoses sont difficiles à évaluer.

REMARQUE: Les informations complémentaires spécifiques à chaque espèce avec une étude critique concernant les différentes techniques peuvent être trouvées dans le " Manuel sur le soin et l'utilisation des animaux d'expérimentation " volume 1 du Conseil Canadien de protection des animaux. Un complément d'information peut également être trouvé dans le fascicule publié par l'INSERM intitulé: "Expérimentation Animale mode d'emploi" (pages 69 – 101).