

Compte-rendu de la réunion du 18 mai 2005

Ethique en expérimentation animale : actualités et pratiques

L'objectif principal affiché pour cette journée était d'amener les personnes responsables des aspects vétérinaires dans une animalerie à confronter leurs approches de l'éthique en expérimentation animale.

Avant d'aborder les aspects pratiques, un tour d'horizon de la situation française a été fait à l'heure où l'évaluation éthique des protocoles expérimentaux fait l'objet de discussions pour la révision de la directive européenne 86/609 et où la France met en place le Comité national de réflexion éthique sur l'expérimentation animale.

1. Historique, organisation et fonctionnement des comités d'éthique

Le Grice et les comités d'éthique « institutionnels »

B. Verschuere (Grice)

Cette présentation a débuté par une couverture large des aspects fondamentaux de l'expérimentation animale (sa légitimité, sa valeur scientifique et la souffrance animale) et du contexte social dans lequel elle se situait au XIX^{ème} siècle. L'orientation vers une expérimentation plus "humaine" est apparue dans les années 1950, notamment avec le **principe des "3R"** énoncés par Russel et Burch (*The principles of humane experimental techniques*, 1959).

Puis, la réglementation moderne est apparue, instaurant le respect des principes de légitimité, de limitation et de sensibilité de l'expérimentation animale. Si un contrôle réglementaire y contribue, ce respect passe également par des comités *ad hoc* et des référentiels mis à jour.

Des comités d'éthique de la recherche privée se mettent ainsi en place autour d'un groupe de travail, le **Grice** (Groupe de réflexion interprofessionnel sur les comités d'éthique), intégré au Gircor (Groupe interprofessionnel de réflexion et de communication sur la recherche – www.gircor.org).

Le Grice rédige en 1992 une **charte** signée par 25 sociétés.

Ces comités sont essentiellement internes, institutionnels et fonctionnent conformément aux principes de la charte et aux recommandations publiées (*Laboratory Animals* 34, 236-243 (2000), accessible sur le site <http://www.gircor.net/questions/grice.pdf> et n° spécial STAL « Ethique en expérimentation animale » XXVII – Hors Série (2002), accessible sur le site www.afstal.com).

Ces comités **consultatifs** doivent examiner tous les protocoles avant leur réalisation en s'attachant à l'examen des points suivants :

- justification du protocole et de l'absence de méthode autre qu'*in vivo*
- justification du choix de l'espèce animale et du nombre d'animaux
- évaluation et prise en charge de la douleur
- évaluation du stress et de l'inconfort et des moyens mis en œuvre pour les limiter
- appréciation des méthodes de chirurgie s'il y a lieu
- techniques d'euthanasie envisagées

Il est primordial que ces comités puissent justifier de leur activité (archivage et diffusion des notes qui s'y rattachent, protocoles examinés, avis rendus et autres documents émis).

Pour consolider cette reconnaissance, ces comités s'appuient sur le Grice qui constitue un **groupe de travail** national qui s'attache à entretenir une concertation permanente, une source documentaire et à rédiger et diffuser des recommandations.

Ainsi, de tels comités pourraient être de solides partenaires des inspecteurs dans la mission qu'ils partagent : **permettre une recherche respectueuse des animaux.**

Alors que la recherche privée avait mis en place des comités d'éthique propres à chaque établissement ou entreprise (dès 1992), une **concertation du ministère de la recherche et des établissements publics de recherche** (EPST et EPIC : CNRS, INRA, INSERM et CEA) a mené aux débuts des années 2000 à la création de **comités d'éthique inter-organismes** sur l'ensemble du territoire.

Ces comités ont été formés autour de grandes régions universitaires, basées sur le maillage du CNRS. Leur homogénéité tient à la rédaction d'une **charte commune** de l'expérimentation animale et le respect par tous ces comités d'une **Convention cadre** (2001).

Au-delà, chaque comité d'éthique a une convention propre, cosignée par chacun des organismes qui le compose (les 4 principaux déjà cités et d'autres situés à l'échelon régional : universités, écoles vétérinaires...).

Ces comités sont des **instances consultatives** ; leur saisine est facultative, mais ne peut intervenir qu'*a priori*. Ils portent leur attention sur les conditions d'utilisation des animaux et ne cherchent pas à juger de la justification scientifique, ni de l'aspect réglementaire des protocoles.

A leur échelle, ils peuvent bénéficier de l'éclairage de personnalités extérieures, telles que philosophes ou sociologues. En revanche, la présence d'un vétérinaire inspecteur poserait inévitablement la question de la frontière entre l'évaluation éthique et la fonction réglementaire.

Toutefois, le comité d'éthique, tel que celui de l'Île de France Sud, est à même de rappeler à tout chercheur qui présente un protocole que celui-ci doit être déclaré à la préfecture s'il présente un caractère douloureux.

Création du comité national de réflexion éthique

N. Dudoignon (IRSN)

Un Comité National de Réflexion Ethique sur l'expérimentation animale est créé par le décret 2005-264 du 22 mars 2005. Il est placé auprès de la CNEA (Commission nationale de l'expérimentation animale) et a pour mission d'émettre des avis sur les questions éthiques soulevées par l'expérimentation animale.

Missions du Comité national

D'après le décret, ce comité "*est chargé notamment :*

- *d'élaborer et de publier une charte nationale portant sur la déontologie et l'éthique de l'expérimentation animale et de faire toute proposition sur sa mise en application*
- *d'adresser à la CNEA toute recommandation de méthode susceptible d'améliorer le bien-être des animaux utilisés à des fins expérimentales ou à d'autres fins scientifiques"*

Mise au point d'une charte nationale : elle devrait se faire à partir des chartes existantes (Grice et comités régionaux) et serait un texte de référence pour toute entité qui voudrait s'y rattacher, ce qui conférerait à cette entité une reconnaissance juridique.

Le Comité national aura également à charge :

- de définir le champ d'action des comités établis auprès des laboratoires
- de rédiger un Livre Blanc sur la moralité de l'expérimentation animale, qui s'enrichira des questions éthiques soumises à la CNEA et des avis rendus par le Comité national

Organisation du Comité national

Seule la CNEA peut être saisie des questions éthiques et le Comité national n'est pas directement accessible pour le public et les professionnels.

Seuls les 2 ministres de la recherche et de l'agriculture et le président de la CNEA peuvent saisir le Comité national.

Les avis que rendra le Comité national ne seront pas dirigés à l'attention de structures précises ; il s'agira bien plus de recommandations générales.

Aucune relation fonctionnelle n'est prévue avec les comités "de terrain"

→ Bilan : Toute information ou action transitera par la CNEA

Composition du Comité national

1 président + 14 membres :

- 2 représentants de l'Etat : ministères de la recherche et de l'agriculture
- 2 professionnels de l'expérimentation animale pour la recherche publique et enseignement
- 2 professionnels de l'expérimentation animale pour la recherche privée (dont 1 pharmacien)
- 1 personnalité du secteur médical
- 1 personnalité du secteur vétérinaire
- 3 personnalités qualifiées en tant que philosophe, juriste ou sociologue
- 3 personnalités désignées par les associations de protection des animaux et de la nature

Objectif de la CNEA : intégrer au Comité national des personnalités nouvelles dans le domaine de l'animal de laboratoire et pour autant représentatives et compétentes
L'AFSTAL peut donc proposer des noms.

→ Bilan : Décision finale au niveau des ministères (recherche et agriculture)

Le projet du Gircor pour les comités d'éthique

B. Verschuere (Gircor)

Le Gircor (Groupe interprofessionnel de réflexion et de communication sur la recherche – www.gircor.org) rassemble les établissements de recherche publics et privés.
Il anime la relation entre l'opinion publique et le chercheur dans le domaine de l'expérimentation animale.

Le contexte : la confiance de l'opinion publique

- Deux Français sur 3 pensent que l'expérimentation animale est surveillée par des comités d'éthique (sondage Louis Harris 2004).
- Les comités d'éthique sont un élément fort sur lequel s'appuie la confiance que l'opinion publique donne aux chercheurs en matière d'expérimentation animale.
- Les 2 autres éléments forts sont le progrès médical et la réglementation.

Le projet du Gircor

- Le Gircor veut consolider les comités d'éthique français, qui constituent un ensemble encore hétérogène, pour renforcer la confiance du public.
- Ce projet concerne tous les comités qu'ils soient privés ou publics, institutionnels, locaux ou régionaux.
- Tous les acteurs actuels sont appelés à adhérer à ce projet fédérateur.

Le Comité national

- Le comité national partage le même objectif de consolidation des comités d'éthique.
- Le comité national sera représenté dans tous les travaux qui entreront dans le cadre du projet du Gircor.
- Le Gircor sera attentif aux travaux du comité national.

Le Grice

- Le Grice est un groupe représentatif et homogène.
- Il bénéficie d'une expérience et de la publication de documents de référence sans comparaison en France.
- Il doit s'associer à un projet national et y représenter tous ses membres.
- Il doit continuer à fédérer ses membres et à répondre à leurs attentes.

Afstal et Opal

- Afstal et Opal seront systématiquement informées et associées par l'intermédiaire de leur président

Le colloque du 27 octobre 2005

- Un colloque en cours d'organisation et qui réunira tous les comités français doit se tenir le 27 octobre à la faculté de Pharmacie Paris V.
- L'objectif est un échange d'informations et d'expériences afin de faire sortir des besoins communs et des groupes de travail.

2. Mise en œuvre des principes de l'Éthique

La notion de bientraitance des animaux

C. Milhaud
(Acad. Vétérinaire de France)

Dans le domaine de la protection animale, qu'il s'agisse de conditions d'élevage des animaux de rente ou de pratiques expérimentales, force est de constater que la **notion de bien-être animal** est à l'origine d'incompréhensions et d'échecs dans les nombreux débats qu'elle suscite entre "protecteurs" et expérimentateurs. Cet écueil émane en grande partie du fait que le bien-être animal est impossible à définir de manière simple et objective. D'une part, chacun y intègre une interprétation subjective liée à sa culture et à son degré d'empathie envers l'animal. D'autre part, si des signes notoires de mal-être sont connus et reconnaissables grâce aux travaux des biologistes et des éthologues, l'état de bien-être ne peut, quant à lui, reposer à ce jour sur des signes objectifs probants (absence de marqueurs biologiques spécifiques, incertitudes sur les marqueurs comportementaux, incertitudes sur la référence aux conditions naturelles).

Par ailleurs, les termes anglo-saxons distincts que sont "*wellbeing*" (état) et "*welfare*" (action visant à atteindre cet état) sont réduits en langue française à la seule expression de bien-être, qui parvient ainsi difficilement à dissocier l'état ou la sensation des actions qui peuvent être menées pour y parvenir.

Enfin, devant ce champ de définitions dans lequel persiste un certain flou, le législateur lui-même connaît potentiellement des difficultés de positionnement.

En réponse à ces difficultés communes d'interprétation du législateur, du public, du "protecteur" et de l'expérimentateur, il convient d'adopter une traduction française du mot "*welfare*" exprimant le dynamisme de l'action. En 2002, lors d'un colloque organisé à l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort et portant sur « Santé et bien-être des animaux de production », un des intervenants a qualifié de **bientraitance** l'ensemble des actions pratiques en faveur du bien-être des animaux. Inverse de maltraitance, ce néologisme a l'avantage, sur le plan linguistique, d'être immédiatement compris des francophones.

Proposition de définition

La "bientraitance" traduction du mot anglais "*welfare*" consiste, pour une société donnée, en la formalisation, morale ou réglementaire, d'une volonté visant à satisfaire les besoins physiologiques et comportementaux propres à chaque espèce animale et à chacun de leurs milieux de vie, dans le but d'atteindre, chez l'animal, au delà de l'état d'adaptation, un état imaginé comme comparable à l'état de bien-être chez l'homme.

Cette formalisation, à visée pratique, devrait se fonder sur un consensus prenant en compte la sensibilité du public, les contraintes légales, l'expérience des professionnels et les progrès réalisés dans la connaissance objective de la sensibilité et des besoins des animaux.

Commentaires sur la notion de bientraitance

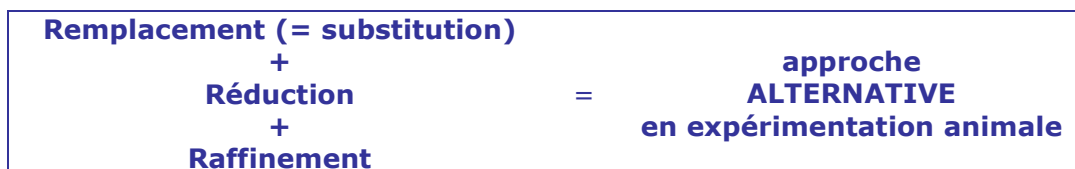
- Ne fait pas référence à la conscience ou à l'état naturel.
- S'inscrit, au sein de la réflexion éthique menée par les expérimentateurs, dans la démarche du "comment", celle de l'éthique de moyens et d'action. Elle intègre le R de "*refinement*".
- Se conçoit aux travers d'attitudes ou de mesures spécifiques et évolutives, permettant d'intégrer au fur et à mesure toutes les avancées enregistrées dans la recherche biologique et éthologique.
- Acceptation sociale facilitée permettant l'amorce d'un dialogue ouvert, fructueux et apaisé entre le législateur, les "protecteurs" et les expérimentateurs.
- Indépendante juridiquement de la maltraitance.

Lire l'article complet du Dr vétérinaire C. Milhaud dans ce même numéro de STAL.

Suite à l'exposé de M. Milhaud qui constitue une introduction parfaite au thème de l'éthique en expérimentation animale, cette présentation vise à énoncer les grands principes qui, à ce jour, guident la lecture éthique des protocoles de recherche impliquant le recours aux animaux.

La règle dite des "3R" (Russel et Burch; *The principles of humane experimental techniques*, 1959) vient en premier lieu :

- Remplacement = recours à des méthodes de substitution, évitant le recours à l'expérimentation *in vivo* et faisant appel à des systèmes inanimés, des animaux invertébrés ou des cultures de cellules ou de tissus
- Réduction du nombre d'animaux employés en instaurant la prise en compte exhaustive des références bibliographiques, en réduisant le nombre de variables, en garantissant des lots homogènes et le contrôle des conditions de l'expérience
- Raffinement des techniques expérimentales concernant l'environnement, l'élevage, les modes opératoires... par l'instauration de lignes directrices et de "points limites". En permettant le développement de nouvelles techniques et par son impact prépondérant sur douleur et stress, le raffinement peut amener au remplacement et à la réduction des animaux utilisés.



Le 4^{ème} R qu'il est classique d'évoquer est celui de la Responsabilité de l'expérimentateur.

Modalités de révision des protocoles

En s'appuyant sur les "3R", l'examen d'un protocole effectué par un comité d'éthique s'attachera en particulier aux points suivants :

- Éléments Généraux
 - Contexte global
 - Garantie de la validation scientifique préalable (utilisation des animaux à bon escient)
 - Retour d'expérience apporté par le chercheur
- Points incontournables
 - Description de l'étude et justification du modèle animal retenu : avantages du modèle, documentation existante
 - Description du modèle animal : ses caractéristiques
 - Nombre d'animaux prévus au protocole : différents lots rapportés au schéma expérimental
 - Méthodes expérimentales : maîtrise des modes opératoires sous la responsabilité de l'expérimentateur – identification et limitation des risques – points limites et conduite à tenir
 - Devenir des animaux : méthode d'euthanasie et implication du chercheur – réutilisation éventuelle des animaux
- Conclusion
 - Rapport Bénéfice/Préjudice ("*Cost/Benefit*" instauré par les anglo-saxons) : c'est sur la base de ce rapport que le comité peut décider de l'avis rendu. Reste à définir bénéfice et préjudice, car l'interprétation n'en est pas consensuelle
 - Evaluation du niveau d'agression globale inhérent au protocole : celle-ci doit-elle mener le comité d'éthique à statuer sur l'obligation de déclaration du protocole aux autorités vétérinaires préfectorales en raison de son caractère douloureux ?
 - Ces derniers éléments seront probablement source de discussions dans le processus de reconnaissance légale des comités d'éthique en place ou en devenir.

Traduction du terme anglais "endpoint", le point limite est l'indicateur le plus précoce dans une expérimentation sur animal de douleur sévère, de souffrance ou d'un état moribond. Encore appelé critère d'arrêt, il participe en pratique à un système d'aide à la décision et nécessite à cette fin un outil d'évaluation de la souffrance (grille de score).

Tout en contribuant à améliorer la qualité scientifique des études par l'obtention de données plus fiables, la mise en point de critères d'arrêt vise également à éviter que l'interruption des expérimentations ne survienne qu'avec la mort ou un état moribond des animaux, ou même après avoir généré un niveau de douleur ou de souffrance inutile.

L'élaboration de la grille de score s'est inspirée des lignes directrices de l'OCDE : *Guidance Document on the recognition, Assessment and use of clinical signs as humane Endpoints for Experimental Animal Used in Safety Evaluation* (OCDE – 2000. ENV/JM/MONO (2000) 7).

L'ILAR (http://dels.nas.edu/ilar_n/ilarhome/) et le CCPA (http://www.ccac.ca/fr/CCAC_Main.htm), entre autres, sont également à l'origine de recommandations en la matière.

En raison du caractère a priori subjectif de l'évaluation de la souffrance, la grille est établie, puis constamment affinée, sur la base d'observations faites au cours d'études pilotes visant à faire ressortir des critères objectifs. Les valeurs de points attribués à ces critères sont définies selon une évaluation rétrospective.

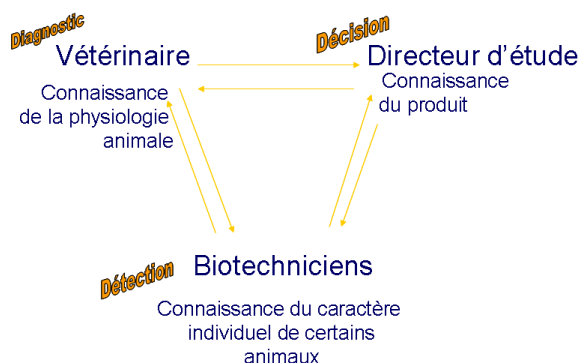
Une fois instaurée, la grille permet d'évaluer la souffrance en lui attribuant une note et de prendre une décision en fonction du score. Elle est utilisée dès lors qu'on suspecte subjectivement une souffrance de l'animal.

Telle qu'elle est conçue, la grille permet l'évaluation en plusieurs phases d'observation : de loin, de près, puis en manipulant les animaux.

Le critère idéal n'existant pas, l'évaluation se fait grâce à la combinaison de plusieurs critères : comportementaux, physiologiques, cliniques et zootechniques.

Une utilisation régulière de la grille permet, par l'analyse des données recueillies et du score global, de noter l'évolution de l'état de souffrance des animaux.

Toute personne formée à l'observation des animaux peut employer la grille de score. Néanmoins, la décision du devenir de l'animal reste à la charge du directeur d'étude.



En conclusion, l'instauration d'une démarche systématique de points limites connaît de nombreux avantages éthiques et scientifiques, même si elle se heurte à certaines contraintes, telles que la nécessaire prise en compte de la diversité de réponse des espèces animales face à la douleur ou encore une validation longue.

Elle s'avère néanmoins un instrument efficace pour maintenir, voire élever le degré de sensibilité des opérateurs face à leurs expérimentations sur les animaux de laboratoire.

Le texte intégral de la thèse est disponible auprès de l'oratrice ou en ligne sur le site Internet de l'école vétérinaire de Nantes (http://www.bibli.vet-nantes.fr/theses/2004/picavet4_21/frame.htm).

**Exemple de mise en place de point limite :
le test d'activité sur souris du vaccin rabique à usage humain**

JC. Moulin
(Sanofi Pasteur)

Le test d'activité du vaccin rabique tel qu'il est décrit à la Pharmacopée Européenne est un test par challenge léthal consistant à déterminer la dose de vaccin qui protège 50% des souris (DE50) contre les effets d'une dose létale de virus administrée par voie intra-cérébrale.

Les souris sont observées pendant 14 jours après épreuve avec comptage des mortes et des survivantes en maintenant ces dernières dans le test jusqu'à leur mort éventuelle.

D'un point de vue éthique, il est apparu nécessaire de diminuer la souffrance de l'animal en développant une observation clinique précise permettant de définir la fin de l'expérimentation pour les souris malades. Cette observation est appelée communément lecture par *Humane End Point*.

La séquence d'apparition des signes cliniques étant bien établie pour l'infection au virus rabique, une échelle de scores allant de 0 à 5 a été instaurée pour traduire cette évolution clinique.

SCORE DES SIGNES CLINIQUES DANS UN TEST D'ACTIVITE RAGE																	
Animal n°		Jours après infection															
		-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	Poids (g)	22,2	22,3	21,6	21,9	22,1	22,3	21,8	21,2	18,5	16,9	15,4	14,2	13,9			
	Température corporelle (°C)	38,1	38,4	37,5	37,8	37,9	37,8	37,9	37,7	37,1	36,5	35,7	34	33,7			
	Signes cliniques (score)	0	0	0	0	0	0	0	1	2	3	4	4	5			
	poil ébouriffé								X	X	X	X	X	X			
	bossu								X	X	X	X	X	X			
	mouvements lents									X							
	mouvements circulaires									X	X						
	tremblements légers										X	X					
	mouvements saccadés											X					
	convulsions										X	X	X				
	paresis											X	X				
	paralyse												X				
	prostration																
	agonie, coma														X		
	Commentaire : souris morte à J12.																

Ensuite, le score 2 a été initialement déterminé comme le score clinique le plus faible présentant une bonne corrélation avec la lecture classique et à partir duquel la mort des souris survient invariablement dans les 14 jours, ce qui permet de retirer les animaux de l'expérimentation et de procéder à leur euthanasie "humainement". En effet, le score 1 présente trop de discordances d'un animal à l'autre et le score 3, moins précoce que le score 2, ne permet pas de limiter de façon significative la souffrance de l'animal.

Cette lecture par *Humane End Point* en fonction du score clinique 2 a été ensuite mise en œuvre sur 10 séries de contrôle de routine en parallèle à la lecture classique. L'analyse statistique réalisée n'a démontré aucune différence significative, validant ainsi l'équivalence analytique entre les 2 méthodes.

La lecture par *Humane End Point* est donc maintenant appliquée en routine pour le test d'activité rabique.

Référence : Cussler, K (Paul Erlich Institut), Hendriksen, C.F.M (RIVM), Morton, D.B (university of Birmigham) "Humane Endpoints Replace Lethal Parameters in Batch Potency Tests of Rabies Vaccines".

Les protocoles de chirurgie étant tous à l'origine d'un stimulus nociceptif pouvant atteindre le palier III de douleur de l'OMS, ils nécessitent une couverture analgésique péri-opératoire adaptée (un anesthésique général ne suffit pas). Celle-ci peut être obtenue au moyen de molécules diverses, dont les propriétés et les formules disponibles sont abordées ci-après.

Anesthésiques locaux

- Deux classes : esters et amides
- Pharmacocinétique
 - Résorption
Principalement locale
Voie sous-cutanée, spinale, articulaire...
l'addition d'adrénaline permet d'augmenter la durée d'action
 - Métabolisme hépatique et élimination rénale
- Toxicité
 - Système nerveux central (SNC) : convulsions
 - Système cardiovasculaire (SCV) :
blocage orthosympathique : vasodilatation
effet cardiaque direct : inotrope négatif ; diminution de la vitesse de conduction
toxicité tissulaire

Ne jamais injecter plus que la dose toxique par voie IV !

- Molécules les plus utilisées
 - lidocaïne (Laocaïne NDV, Lurocaïne NDV, Xylovet NDV)
 - bupivacaïne (Marcaïne NDH)
- Effet

agent	solubilité (lipides)	latence	durée
lidocaïne	3,6	faible (2 min)	90-200 min
bupivacaïne	30	intermédiaire (4-5 min)	180-600 min
- Formes
 - pour application externe : spray, solutions, gels
 - injectables
- Utilisation d'une anesthésie locale seule
But: réaliser un geste douloureux - exemple : application externe ou infiltration
- Utilisation combinée
But: complément analgésique et/ou anesthésique - pas forcément applicable dans le domaine de l'animal de laboratoire

Anti-inflammatoire non stéroïdiens (AINS)

Les AINS permettent uniquement de gérer des douleurs de palier I (douleur légère) et ne peuvent donc pas assurer de couverture analgésique suffisante pour une douleur d'origine chirurgicale. Le cas échéant, leur emploi est préconisé relativement tôt par rapport à la chirurgie : efficacité supérieure en administration préopératoire que postopératoire, la latence d'effet pouvant être plus importante (plus de 30 minutes).

Les AINS de type anti-Cox 2 préférentiels (carprofène, acide tolfénamique, meloxicam, nimésulide) sont très bien tolérés (antalgiques "passe-partout") et sont donc adaptés en analgésie de fond. Les coxibs (anti-Cox 2 sélectifs – firocoxib en médecine vétérinaire) n'ont pas une meilleure efficacité analgésique et leur tolérance reste en question.

Alpha-2 agonistes

- Agents disponibles
 - xylazine (Rompun ND)
 - médétomidine (Domitor ND)
 - romifidine (Romidys ND)
- Antagoniste : atipamézole (Antisédan ND)

mode d'action des alpha2 agonistes =
stimulation des récepteurs alpha 2

→ en périphérie : vasoconstriction
→ au niveau central : sédation,
analgésie, dépression SCV

- Effets obtenus
 - Sédation : importante (médétomidine >> romifidine)
 - Anxiolytique : très net
 - Analgésie : importante
 - Relaxation musculaire
 - Antagonisables
- Effets secondaires
 - Dépression cardiovasculaire (xylazine > médétomidine et romifidine qui sont moins hypotenseurs)
 - Troubles du rythme
 - Vasoconstriction dans un 1^{er} temps : hausse de la pression artérielle moyenne (puis, baisse après quelques minutes)
 - Vomissements

Durée d'action
xylazine : 20-30 min
médétomidine et romifidine :
jusqu'à 90 min

Les $\alpha 2$ -agonistes sont très intéressants, car ils sont puissamment analgésiques (Pettifer & Dyson, *Can J Vet Res* 1993). En revanche, leurs effets secondaires sont importants : le débit cardiaque est divisé par 2 ou 3.

Autre limite : l'utilisation de la médétomidine en postopératoire plus discutable du fait de sa courte durée d'action si on la compare à la buprénorphine (par exemple).

Opioïdes (ou "morphiniques")

- Définition : dérivés naturels ou synthétiques de l'opium
- Effets liés aux récepteurs morphiniques activés

	mu	kappa
analgésie	+++	+
dépression respiratoire	+++	+ (plateau)
sédation	±	+
bradycardie	++	+

- Intérêt
 - analgésie dont l'intensité est directement dépendante de la dose administrée
 - antitussifs
 - antagonisables
- Limite
 - sédation (!)
 - dépression respiratoire
 - bradycardie
 - législation relative à leur approvisionnement et leur détention
- Opioïdes disponibles
 - Buprénorphine (Temgésic ND)
agoniste partiel mu ; administration IV, IM (PO éventuelle) ; durée d'action (6-8h)
 - Morphine
agoniste mu ; injection IV lente, IM, SC ; durée d'action: 4-5h
 - Nalbuphine (Nubain, nalbuphine Renaudin)
agoniste kappa, peu puissant ; non contrôlé
injecter IV (IM douloureuse) ; durée d'action (3-4h)
 - Péthidine ou mépéridine (Péthidine Renaudin)
 - Patchs de fentanyl (Durogésic)
en postopératoire, jusqu'à 3-5 jours de traitement chez des animaux de plus de 4 kg
les patchs de fentanyl actuellement disponibles peuvent être découpés, ce qui permet, en réduisant les doses

Autres

- Tramadol (Topalgic, Contramal NDH)
 - Pallier II, forme orale ou injectable.
 - Opioïde de synthèse, sorti de l'usage hospitalier (non contrôlé).
 - Utilisation croissante chez les petits animaux de compagnie, mais pas de retour d'expérience pour les animaux de laboratoire.
 - Durée d'action assez courte chez les grandes espèces qui nécessitent 2 à 3 administrations par jour. Elle risque d'être encore plus limitée chez les rongeurs.
 - Effets secondaires sont différents chez les petits animaux de ceux connus chez l'homme
- Kétamine
 - A faible dose, injection continue.
 - Effet anti-hyperalgésique : si les effets analgésiques directs de cette molécule sont limités, elle permet néanmoins d'améliorer l'effet analgésique d'un autre produit. On qualifie parfois la kétamine de "co-analgésique".
- Gabapentine
 - Antidépresseur
 - Action sur les douleurs neuropathiques ?
- Associations

Ex. : morphine + kétamine + lidocaïne (MLK, "milk" des anglosaxons). Ce mélange peut être administré en injection continue sur animal aisément manipulable. Les quantités d'anesthésiques usuelles peuvent être fortement réduites, parfois d'un facteur 5.

Choix du moment de l'administration

- Administration préopératoire
 - Analgésie à visée préopératoire : sédation-analgésie
 - Analgésie à visée per-opératoire à l'aide d' $\alpha 2$ -agonistes ou de morphiniques
 - Analgésie à visée postopératoire : "analgésie préventive" insuffisante, sauf pour couvrir une douleur de palier I à l'aide d'AINS dont l'administration "préop" fait effet en "postop"
- Administration per-opératoire

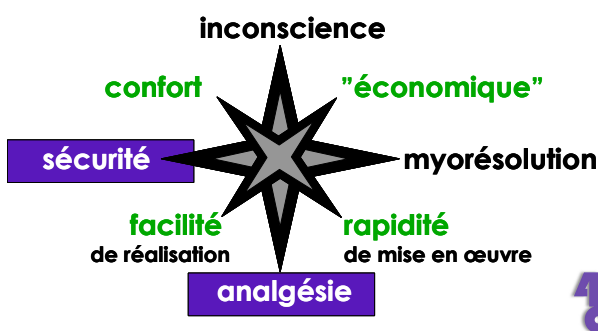
- Besoins : sécurité/fiabilité et analgésie efficace	Efficacité	++++
	Durée d'action	+

 - Molécules de choix (les anesthésiques généraux ne suffisent pas)
anesthésiques locaux
et/ou?
 $\alpha 2$ -agonistes ou morphiniques
- Administration postopératoire

- Besoins adaptés à une stimulation douloureuse diminuée, mais persistante	Efficacité	++
	Durée d'action	+++

 - Postopératoire immédiat (= per-opératoire final) ou différé?
 - Molécules de choix (les $\alpha 2$ -agonistes ne sont pas adaptés au postopératoire différé)
AINS (douleur de palier I) : acide tolfénamique, méloxicam, carprofène, ...
Morphiniques : patchs de fentanyl, morphine, buprénorphine (orale/injectable)

Composantes d'une anesthésie générale



Contrôle de la douleur chirurgicale chez les animaux

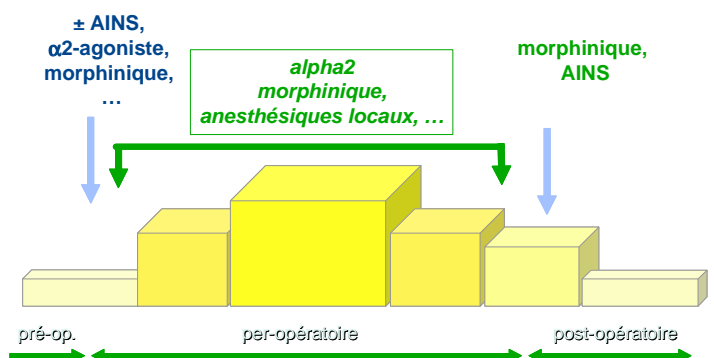


Table ronde :

- Quelques questions-réponses
 - Utilisation de la voie rectale pour l'analgésie : peut-être préconisée, mais avec une perte d'efficacité de la dose totale dans les fèces ; permet une meilleure disponibilité au SNC en évitant le 1^{er} passage hépatique ; biodisponibilité et répétabilité restent à confirmer.
 - Utilisation de buprénorphine par voie orale : la dose préconisée est énorme du fait d'une forte dégradation hépatique
 - L'utilisation du dextropropoxyphène (opioïde agoniste des récepteurs mu) n'est pas d'usage... à envisager ?
 - La noramidopyrine (encore appelée métamizol ou dipyrone), agoniste Cox3 comme le paracétamol, pourrait avoir un bon potentiel analgésique en postopératoire
 - Chez le lapin, quel anesthésique utiliser en vue de l'exasanguination des animaux ? : Pentobarbital : peu satisfaisant ; tilétamine-zolazépam : oui ; propofol : à tester.
- Quelques retours d'expérience
 - Un bolus très léger d'acépromazine-kétamine-éther fournit une narconeuroleptanalgie qui permet d'augmenter la durée d'action et de diminuer les doses d'anesthésie.
 - Effets secondaires de la buprénorphine : utilisée par voie sous-cutanée chez le rat suite à une laparotomie, elle a donné lieu à plusieurs cas d'arrachage de points cutanés et de déhiscence complète de plaie chirurgicale. Le prurit, reconnu comme effet secondaire de cet analgésique, semble être incriminé. En outre, l'administration de buprénorphine sous forme de gelée ("jelly") ne paraît pas satisfaisante en termes d'efficacité chez le rat.

Conclusion

Dans un contexte de péri-opératoire et d'analgésie, il est important d'associer la connaissance des moyens pharmacologiques à celle des procédures et des comportements des animaux. Certains supports ont été développés dans ce but (ex : <http://www.digires.co.uk>).

3. Pathologie des animaux de laboratoire

Aide mémoire

Enquête sanitaire dans les animaleries

D. Grezel (ENVL)

L'état sanitaire des animaux de laboratoire est en constante amélioration, en raison des statuts fournis par les éleveurs d'une part, du bioconfinement croissant des animaleries d'autre part et enfin des recommandations de suivi sanitaire (FELASA).

Néanmoins, plusieurs études laissent penser que la pression d'infection reste importante dans les unités d'expérimentation (Jacoby et Lindsey 1998, Zenner et Regnault 2000). Il apparaît utile donc de faire le point sur les problèmes rencontrés et les sources de contamination possibles, en particulier chez les rongeurs, sur les stratégies de suivi sanitaire effectivement mises en place et leur adéquation. Cet état des lieux repose sur 3 approches parallèles :

La diffusion d'une enquête nationale auprès des responsables d'animaleries pour identifier les problèmes sanitaires qu'ils rencontrent et les méthodes de suivi sanitaire qu'ils utilisent en routine. Les résultats seront publiés par l'AFSTAL. Les questionnaires sont téléchargeables sur le site internet de l'AFSTAL et plusieurs documents d'aide sont accessibles en ligne sur le site internet de l'École Nationale Vétérinaire de Lyon (http://www.vet-lyon.fr/ens/expa/enquete_ComVet.htm). Pour être exploitable, cette enquête nécessite des réponses nombreuses et sincères, ce qui est facilité par l'anonymat et l'ouverture des questionnaires.

La rédaction collective d'un **aide-mémoire de pathologie des animaux de laboratoire** par les membres de la ComVet, destiné aux responsables d'animaleries et aux chercheurs. Cet aide-mémoire a pour objectif d'informer sur les principales infections et parasitoses rencontrées, sur leurs conséquences sanitaires et expérimentales, dans chacune des principales espèces d'animaux de laboratoire. Il fait également le tour des méthodes de diagnostic et des conduites à tenir. Publié par l'AFSTAL, il permettra, sans se substituer aux nombreuses publications et ouvrages anglophones, une plus grande sensibilisation des chercheurs à la qualité sanitaire des animaux.

Un projet d'**étude de la prévalence des infections des rongeurs sauvages et domestiques**. En particulier, il est tentant de se rapprocher des réseaux d'hygiène et de dératisation urbains, afin de recueillir des sérums exploitables sous l'angle du risque biologique pour les animaleries expérimentales. Une discussion doit avoir lieu pour définir les infections qui devront être suivies, les modalités d'analyse et d'interprétation des échantillons.

4. Brèves

Murine norovirus (MNV)

F. Veillet
(Charles River)

Le norovirus est un Caliciviridae. C'est un virus non enveloppé constitué d'un simple brin d'ARN, ce qui lui confère une forte résistance dans l'environnement (résiste à la congélation, au chauffage à 60°C, à la chloration des réseaux d'eau potable...).

Chez l'homme, il est responsable d'une grippe intestinale (infection au virus Norwalk).

En animalerie, son intérêt dérive d'une publication de 2003 qui fait état du 1^{er} cas de norovirus détecté chez la souris (Karst, S.M. *et al.* STAT1-dependent innate immunity to a Norwalk-like virus. Science 299 (5612), 1575-1578 (2003). Depuis, les taux de détection sont relativement élevés aux USA.

Il s'agit d'un groupe de virus spécifiques d'espèces ; ainsi, ces agents, tels que le *murine norovirus-1* (MNV-1), ne sont pas des agents de zoonose.

Il n'y a pas de transmission verticale connue.

La pathogénicité du MNV-1 est dépendante du statut immunitaire de la souche murine atteinte :

- infection transitoire et asymptomatique chez les souris immunocompétentes : impact biologique et sanitaire faible au regard du taux de séroprévalence élevé (30% aux USA)
- infection persistante, mais toujours sans signe clinique, chez des souris RAG-/- sévèrement déficientes en lymphocytes T et B.
- forte mortalité observée chez des souris RAG/STAT -/- (déficientes en LB et LT et en récepteurs à l'interféron).

En bilan, les souris dont le système immunitaire inné est déficient sont très sensibles, car leur organisme tolère la réplication virale dans les macrophages et les cellules dendritiques.

Diagnostic par tests PCR sur fèces, nœuds lymphatiques mésentériques, écouvillonnage (filtres d'extraction, cages) et sérologie (les animaux infectés restent séropositifs).

En conclusion, c'est un virus silencieux, dont l'impact est très limité *a priori* et ne concerne que des souches murines particulièrement sensibles.

**Prochaine Réunion de la ComVet prévue
5 octobre 2006 à l'Ecole Vétérinaire de Maisons-Alfort**

**Sujets pressentis :
Aspects pratiques de l'Ethique,
actualités réglementaires, bilan de l'enquête sanitaire,
tout autre sujet dont vous nous ferez part...**

Merci à tous les intervenants et aux personnes qui nous ont apporté leur aide dans l'organisation et le déroulement de cette journée.

Les animateurs

**Nicolas Dudoignon
Nathalie Fiks
Hélène Combrisson**

nicolas.dudoignon@irsn.fr
nfiks@club-internet.fr
hcombrisson@vet-alfort.fr