



2.0 Anesthésie des poissons à nageoires

NB : Le genre masculin est utilisé comme générique à seule fin d'alléger le texte.

2.1 Introduction

Ce modèle est destiné aux personnes chargées de former le personnel et les étudiants du ministère des Pêches et des Océans (MPO) à l'anesthésie des poissons d'expérimentation. Les modèles de formation fournissent les bases requises pour un cours de formation, mais le formateur peut utiliser des outils pédagogiques supplémentaires s'il le souhaite.

Un formateur chevronné doit faire une démonstration des méthodes décrites dans ce modèle puis estimer que les participants sont capables de suivre les procédures avant de les autoriser à mettre en pratique ces méthodes sur des poissons sans supervision directe. La formation pratique du personnel est une condition *sine qua non* pour que le Conseil canadien de protection des animaux (CCPA), dont le MPO est membre, approuve les installations. Ce modèle fait partie d'une série complète, élaborée par la Direction des Sciences du MPO, sur la formation des utilisateurs d'animaux aquatiques d'expérimentation.

Ce modèle a pour objet l'anesthésie par immersion avec des produits approuvés par Santé Canada. Les dosages de médicaments indiqués sont étudiés pour les salmonidés. Si d'autres espèces sont anesthésiées, les formateurs devront adapter les dosages et les techniques mentionnés dans ce document.

Deux exercices sont proposés : un exercice préliminaire visant à démontrer les effets que peuvent avoir différents dosages d'un même produit chimique puis un exercice plus complexe visant à démontrer les effets de la sédation avant l'anesthésie.

2.2 Raison d'être

Le simple fait de sortir les poissons de l'eau et de les manipuler provoque une réaction de stress. D'un point de vue éthique, quand des animaux de laboratoire doivent subir des interventions douloureuses ou stressantes, les chercheurs se doivent de réduire au minimum voire de supprimer les effets indésirables en résultant.

Les anesthésiques sont préconisés dans les expériences entraînant des stimuli douloureux ou nocifs, ainsi que dans celles nécessitant de nombreuses manipulations risquant d'occasionner des traumatismes et des lésions physiologiques aux poissons.

2.3 Autorité

Le vétérinaire (membre du personnel ou consultant) ou le Comité de protection des animaux sont tenus de fournir les informations sur les méthodes d'anesthésie expérimentées sur les différentes espèces de poissons à l'étude dans leur région



respective. Les Comités de protection des animaux peuvent déléguer l'enseignement de ces procédures d'anesthésie à un formateur possédant une compétence et une expérience avérées dans les domaines de l'anatomie et de l'anesthésie. Cette personne devra en outre avoir obtenu par le passé d'excellents résultats en termes de survie des poissons anesthésiés selon les techniques faisant l'objet de cette formation. Avant de commencer les exercices, le personnel doit être formé à la méthode d'anesthésie adaptée à l'espèce de poisson à l'étude.

Santé Canada réglemente l'utilisation des médicaments et des produits chimiques sur les animaux tandis que la Commission des accidents du travail fixe les mesures de sécurité à respecter pour la protection de la santé humaine. En général, seuls les produits approuvés par Santé Canada pour utilisation sur les poissons doivent être utilisés comme anesthésiques. (Nota : En 2002, Santé Canada a annulé tous les certificats d'études expérimentales pour l'huile de clou de girofle.)

2.4 Objectifs de cette formation

2.4.1. Exercice élémentaire

1. Comprendre et être capable de calculer le dosage des médicaments.
2. Comprendre comment manipuler de manière sécuritaire les anesthésiques.
3. Apprendre à surveiller les poissons pendant l'anesthésie.
4. Comprendre l'importance de contrôler la qualité de l'eau pendant l'anesthésie.
5. Apprendre à immobiliser et à manipuler délicatement les poissons.
6. Se familiariser avec les récipients et le matériel nécessaires pour la préparation d'un bain anesthésiant.

2.4.2. Exercice avancé

1. Apprendre à limiter le stress causé par les manipulations en recourant à la sédation avant l'anesthésie.
2. Comprendre le principe de l'anesthésie mixte.
3. Mieux comprendre les différents stades de l'anesthésie.

2.5 Formation théorique (à étudier avant les travaux pratiques)

1. « Les poissons d'expérimentation ».
2. Les lignes directrices du CCPA sur : le soin et l'utilisation des poissons en recherche, en enseignement et dans les tests (2005), section sur l'anesthésie.
3. Formation SIMDUT.
4. Synthèse théorique incluse en annexe C.

2.6 Détails de l'exercice élémentaire

Les poissons sont exposés à quatre concentrations différentes de TMS^{MD} pendant que les participants surveillent les modifications comportementales ou physiologiques.

2.6.1 Durée

Exercice élémentaire

Préparation : 1 heure



Théorie et pratique : 3 heures

2.6.2 Matériel nécessaire (pour un groupe de participants)

- 2,5 g de TMS^{MD}
- 5 g de bicarbonate de sodium (poissons d'eau douce uniquement)
- 100 ml d'eau distillée
- Calculatrice
- Nacelles de pesée et spatule
- Lunettes et masque de protection ou utilisation d'une hotte d'aspiration pour le dosage des médicaments
- Balance numérique
- 2 bonbonnes Nalgene ambrées ou autre récipient résistant à la lumière pour conserver les solutions-mères
- Seringue (5, 10 et 20 cm³) pour mesurer la quantité de solution-mère à ajouter dans les récipients d'anesthésie
- 2 aquariums en verre ou en plastique pour l'anesthésie (ou tout autre récipient disponible). Un aquarium de 22,7 l (5 gallons) conviendra parfaitement. Le récipient doit avoir une capacité de 10 l.
- 2 aquariums en verre ou en plastique (ou tout autre récipient disponible) pour la récupération
- 2 diffuseurs (pierres d'aération) ; tuyau à air ; accès à l'air comprimé
- Épuisette sans nœud
- Thermomètre
- Appareil de mesure de l'oxygène dissous
- Papier pH ou pH-mètre (eau douce uniquement)
- Chronomètre
- 4 poissons sains. De préférence de petits poissons, car ils sont plus faciles à manipuler (idéalement, des salmonidés entre 50 et 100 g).

2.6.3 Procédure

Le formateur doit faire une démonstration des procédures avant que les participants ne commencent l'exercice. Les poissons anesthésiés pendant cette séance peuvent être utilisés pour les exercices d'autres modèles de formation (p. ex. : mensuration et pesée, prélèvement sanguin ou marquage).

2.6.3.1 Avant d'expliquer la procédure

- Imprimez l'annexe A (exercice élémentaire) et l'annexe C (synthèse théorique) ; distribuez-les aux participants avant le début de l'exercice.
- Assurez-vous que les participants ont bien lu la totalité des documents, qu'ils ont fait les exercices de calcul et étudié la procédure avant de commencer l'exercice.



- Gardez les poissons à jeun de 18 à 72 heures avant l'exercice. Il est recommandé de demander aux participants de placer sur le bassin des poissons un écriteau portant l'inscription « NPO » (*nil per os*, rien par voie orale) jusqu'à l'heure ou la date fixée par le formateur.
- Surveillez les participants pendant le dosage du médicament ; assurez-vous qu'ils utilisent l'équipement de sécurité approprié et qu'ils notent bien les quantités de médicament utilisées.
- Demandez aux participants de préparer 50 ml d'une solution-mère de TMS^{MD} de 50 mg/ml. Pour un volume total de 50 ml, mélangez 2,5 g de TMS^{MD} avec de l'eau distillée.
- Préparez une solution-mère de 100 mg/ml de bicarbonate de sodium (eau douce uniquement). Pour un volume total de 50 ml, mélangez 5 g de NaHCO₃ avec de l'eau distillée.
- Versez la solution-mère de TMS^{MD} dans une bonbonne Nalgene ambrée.

2.6.3.2 Procédure d'anesthésie

- Durant cette procédure, les poissons seront exposés à quatre concentrations différentes de TMS^{MD} : 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm et 100 ppm (les formateurs devront éventuellement adapter les concentrations selon l'espèce et l'âge des poissons à l'étude).
- Remplissez chaque aquarium (ou autre récipient) avec 10 l d'eau.
- Ajoutez les diffuseurs pour conserver la qualité de l'eau. Réglez-les de manière à obtenir les plus fines bulles possibles afin d'augmenter au maximum la surface d'échange gazeux.
- Ajoutez l'anesthésique dans le premier bassin (25 ppm) : à l'aide d'une seringue, ajoutez 5 ml de solution-mère de TMS^{MD} dans le bassin. Si vous utilisez de l'eau douce, tamponnez-la avec 5 ml de solution-mère de NaHCO₃.
- Mesurez la température et l'oxygène dissous au début de l'exercice; mesurez également le pH (eau douce uniquement).
- Mettez le poisson dans le bassin à l'aide d'une épuisette sans nœud et déclenchez le chronomètre.
- Mesurez la fréquence respiratoire en comptant le nombre de mouvements operculaires sur une période de 15 secondes. Renouvelez l'opération trois fois pendant que les poissons se



trouvent dans le bain anesthésiant : au début de la procédure, lorsque survient la perte de l'équilibre, puis l'absence de réaction au stimulus.

- Notez le temps écoulé entre le début de la procédure et la perte de l'équilibre.
- Notez le temps écoulé jusqu'à l'absence de réaction au stimulus.
- Transférez le poisson dans un bac de récupération avec aération et notez le temps chronométré.
- Mesurez la fréquence respiratoire lorsque le poisson commence à retrouver l'équilibre et qu'il semble avoir un comportement normal.
- Répétez cette procédure pour chacune des quatre concentrations d'anesthésique, afin d'apprendre aux participants les effets du dosage des médicaments. Le tableau 1 indique les quantités de solution-mère à ajouter dans chaque bassin.
- Mesurez la température, l'oxygène dissous et le pH (eau douce uniquement) à la fin de l'exercice.

Tableau 1 : Volume de solution-mère à ajouter dans chaque aquarium de 10 litres pour obtenir la concentration finale souhaitée.

	25 ppm	50 ppm	75 ppm	100 ppm
Volume nécessaire de solution-mère de TMS^{MD} (50 mg/ml)	5 ml	10 ml	15 ml	20 ml
	50 ppm	100 ppm	150 ppm	200 ppm
Volume nécessaire de tampon NaHCO₃ (100 mg/ml)	5 ml	10 ml	15 ml	20 ml



2.6.3.3 Pendant la procédure, les formateurs doivent insister sur les points suivants :

- Immobiliser et manipuler les poissons délicatement.
- Choisir le matériel approprié (c'est une bonne occasion de montrer quels types d'épuisettes et de seaux doivent être utilisés).
- Contrôler la qualité de l'eau.
- Bien choisir le diffuseur ; importance d'avoir des bulles fines afin d'augmenter au maximum la surface d'échange gazeux.
- Identifier les différents stades de l'anesthésie.

2.6.4 Après l'exercice de formation

- Si des poissons sont euthanasiés, les participants doivent recevoir des instructions claires concernant l'élimination des carcasses.
- Si les poissons survivent à l'anesthésie, surveillez-les davantage au cours des 2 à 3 semaines suivant la manipulation.
- Les bains anesthésiants doivent être éliminés conformément aux dispositions locales relatives à la gestion des déchets.
- Désinfectez la zone de travail après la manipulation (informez les participants des procédés normalisés de fonctionnement en matière de biosécurité applicables sur le site).
- Les participants doivent se laver les mains avec du savon désinfectant.
- Mettez à jour vos notes en y indiquant le nombre de poissons euthanasiés pendant cette séance (s'il y en a).
- Mettez également à jour vos notes sur les quantités de médicament utilisées en y incluant le dosage des anesthésiques.

2.7 Notes du CPA

- Spécificités locales à intégrer à la formation (p. ex. : les espèces).



- Autorisation nécessaire pour enseigner/liste des éventuels formateurs pour votre région.

- Toute autre condition particulière pour votre région.



- **2.8 Détails de l'exercice avancé**

Les participants apprennent à associer sédation et anesthésie. Première étape : sédation avec de l'Aquacalm^{MD} ; deuxième étape : anesthésie avec du TMS^{MD}.

- **2.8.1 Durée**

- Préparation : 1 heure

- Théorie et pratique : 3 heures

- **2.8.2 Matériel nécessaire (pour un groupe de participants)**

- TMS^{MD}
 - Bicarbonate de sodium (eau douce uniquement)
 - Aquacalm^{MD}
 - Calculatrice
 - Nacelles de pesée et spatule
 - Lunettes et masque de protection ou utilisation d'une hotte d'aspiration pour le dosage des médicaments
 - Balance numérique
 - Aquariums en verre ou en plastique pour l'anesthésie (ou tout autre récipient disponible)
 - Aquariums en verre ou en plastique pour la récupération
 - Diffuseurs, tuyau à air, accès à l'oxygène
 - Épuisette sans nœud
 - Thermomètre
 - Appareil de mesure de l'oxygène dissous
 - Papier pH ou pH-mètre (eau douce uniquement)
 - Chronomètre
 - 6 à 12 poissons sains. De préférence de petits poissons, car ils sont plus faciles à manipuler (idéalement, des salmonidés entre 50 et 100 g).

- **2.8.3 Procédure**

- Les poissons anesthésiés pendant cette séance peuvent être utilisés pour les exercices d'autres modèles de formation (p. ex. : mensuration et pesée, prélèvement sanguin ou marquage).

- **2.8.3.1 Avant d'expliquer la procédure**

- Imprimez l'annexe B (exercice avancé) et l'annexe C (synthèse théorique) ; distribuez-les aux participants avant le début de l'exercice.
 - Gardez les poissons à jeun de 18 à 72 heures avant l'exercice. Il est recommandé de demander aux participants de placer sur le bassin des poissons un écriteau portant l'inscription « NPO » (*nil per os*, rien par voie orale) jusqu'à l'heure ou la date fixée par le formateur.



- Préparez une solution-mère de TMS^{MD} et d'Aquacalm^{MD} ou pesez la quantité requise de chaque produit. Le dosage variera selon le volume des bacs d'anesthésie utilisés.
- Préparez une solution-mère de NaHCO₃ (eau douce uniquement) ou pesez la quantité souhaitée de bicarbonate de sodium.
- Mettez les poissons sous sédation dans leur bassin d'origine; transférez-les ensuite dans le bac d'anesthésie. La sédation préalable permet de limiter le stress causé par les manipulations.
- Préparez le bassin pour la sédation (0,5 ppm de métomidate), le bac d'anesthésie (70 ppm de TMS^{MD}) et le bac de récupération. Nota : Les dosages indiqués conviennent à la plupart des salmonidés ; les formateurs devront éventuellement adapter les concentrations selon l'espèce et l'âge des poissons à l'étude.

2.8.3.2 Sédation (Aquacalm^{MD})

- Installez les diffuseurs dans le bassin d'origine pour augmenter son oxygénation.
- Interrompez la circulation d'eau (entrée et sortie) du bassin d'origine.
- Dissolvez l'Aquacalm^{MD} dans de l'eau puis répartissez-le uniformément dans le bassin. Une dose de 0,5 ppm devrait permettre d'obtenir le niveau de sédation souhaité pour des salmonidés juvéniles. Déclenchez le chronomètre.
- Surveillez le comportement et la fréquence respiratoire des poissons. Demandez aux participants de noter ces informations dans le tableau correspondant.
- Surveillez l'oxygène dissous et la température tout au long de la procédure.
- Expliquez aux participants que la sédation permet de tranquilliser les poissons mais ne doit pas provoquer la perte d'équilibre avant que les poissons ne soient transférés dans le bac d'anesthésie. Les poissons devraient se laisser capturer sans s'enfuir et ne pas se débattre une fois dans l'épuisette.
- Insistez sur l'importance de la sédation avant toute manipulation : le sédatif permet d'inhiber la production de cortisol.



- Les poissons peuvent rester jusqu'à 8 heures dans le bassin contenant le sédatif.

2.8.3.3 Anesthésie (TMS^{MD})

- Une fois les poissons tranquilisés, transférez un seul poisson dans le bac d'anesthésie (un dosage de 70 ppm convient bien aux salmonidés juvéniles). Demandez aux participants de surveiller son comportement et sa fréquence respiratoire pendant l'anesthésie.
- Déterminez à quel moment survient la perte totale de l'équilibre, de tonus musculaire et de réflexes médullaires avec des mouvements operculaires réguliers. Cette phase est idéale pour les manipulations, les injections ou les biopsies.
- Le formateur peut, s'il le souhaite, profiter de cette occasion pour enseigner les procédures des modèles sur les manipulations ou les échantillonnages *in vivo*. À ce stade de l'anesthésie, les participants peuvent mettre en pratique les différentes méthodes de prélèvement sanguin, d'étiquetage ou de marquage.
- Transférez le poisson dans le bac de récupération puis demandez aux participants de surveiller la fréquence respiratoire et de chronométrer le temps écoulé jusqu'à la récupération.
- Laissez un ou plusieurs poissons dans le bac d'anesthésie jusqu'à l'apparition de la paralysie médullaire. Enseignez les procédures du modèle sur l'euthanasie puis utilisez le(s) poisson(s) pour expliquer les procédures d'échantillonnage ou pour les cours d'anatomie.

2.8.4 Après l'exercice de formation

- Si des poissons sont euthanasiés, les participants doivent recevoir des instructions claires concernant l'élimination des carcasses.
- Si les poissons survivent à l'anesthésie, surveillez-les davantage au cours des 2 à 3 semaines suivant la manipulation.
- Les bains anesthésiants doivent être éliminés conformément aux dispositions locales relatives à la gestion des déchets.
- Désinfectez la zone de travail après la manipulation (informez les participants des procédés normalisés de fonctionnement en matière de biosécurité applicables sur le site).
- Les participants doivent se laver les mains avec du savon désinfectant.



- Mettez à jour vos notes en y indiquant le nombre de poissons euthanasiés pendant cette séance (s'il y en a).
- Mettez également à jour vos notes sur l'utilisation des médicaments en y incluant l'utilisation des anesthésiques.

2.9 Notes du CPA

- Spécificités locales à intégrer à la formation (p. ex. : les espèces).

- Autorisation nécessaire pour enseigner/liste des éventuels formateurs pour votre région..

- Toute autre condition particulière pour votre région.



ANNEXE A : Exercice élémentaire

Durant cet exercice, les poissons seront exposés à quatre concentrations différentes de TMS^{MD} (25 ppm, 50 ppm, 75 ppm et 100 ppm). Vous surveillerez les modifications comportementales ou physiologiques et contrôlerez la qualité de l'eau tout au long des procédures.

Effectuez les exercices de calcul :

Pour calculer correctement un dosage d'anesthésique, vous devez :

- Connaître la capacité du récipient (en litres)
- Être capable de convertir des gallons (GB) en litres si nécessaire (1 gallon [GB] = 4,545 litres)
- Connaître le dosage requis (consultez l'ordonnance). N'oubliez pas que ppm = mg/l
- Être capable de convertir des milligrammes en grammes (1 g = 1000 mg)
- Connaître la concentration des solutions-mères (si besoin est)

Formules

Pour calculer la quantité de poudre à ajouter :

1. Calculez la quantité totale de médicament nécessaire pour le volume final d'eau :
(volume du récipient) x (dosage en mg/l) = mg de médicament nécessaires
2. Convertissez les milligrammes en grammes pour des raisons pratiques :
milligrammes de médicament ÷ 1000 = grammes nécessaires

ou

Pour calculer la quantité de solution-mère à ajouter :

1. Calculez la quantité totale de médicament nécessaire pour le volume final d'eau :
(volume du récipient) x (dosage en mg/l) = mg de médicament nécessaires
2. Déterminez le volume de solution-mère à ajouter :



$(\text{milligrammes de médicament}) \div (\text{solution-mère mg/ml}) = \text{ml de solution-mère à ajouter}$

Cas pratiques

Exemple n° 1 : La poudre est ajoutée directement dans le bac d'anesthésie

Vous souhaitez anesthésier avec du TMS^{MD} un smolt de 100 g dans un récipient d'une capacité de 20 litres (dosage : 70 ppm).

Capacité du récipient : 20 l

Dosage du médicament : 70 ppm = 70 mg/l

- $(20 \text{ litres}) \times (70 \text{ mg/l}) = 1400 \text{ mg de médicament}$
- $(1400 \text{ mg}) \div (1000 \text{ mg/g}) = 1,4 \text{ g}$

Ajoutez 1,4 grammes de TMS^{MD} dans le bac d'anesthésie de 20 litres.

Exemple n° 2 : La solution-mère est ajoutée dans le bac d'anesthésie

Vous souhaitez anesthésier avec du TMS^{MD} un smolt de 100 g dans un bac d'une capacité de 20 litres (dosage : 70 ppm). Votre solution-mère contient 50 mg/ml.

Dosage du médicament = 70 ppm = 70 mg/l

- $(20 \text{ litres}) \times (70 \text{ mg/l}) = 1400 \text{ mg de médicament}$
- $(1400 \text{ mg}) \div (50 \text{ mg/ml}) = 28 \text{ ml de solution-mère à ajouter dans le bac de 20 l.}$



Exercices de calcul

1. Combien de litres pouvez-vous mettre dans un seau de 5 gallons (GB) ?
2. Vous souhaitez anesthésier un groupe de morues charbonnières adultes afin de déterminer si elles sont en période de frai. Votre bassin a une capacité de 150 l et le dosage requis est de 180 ppm. Calculez la quantité de TMS^{MD} à ajouter.
3. Vous devez anesthésier un groupe d'ombles de fontaine pour pratiquer des biopsies. Le bac pour l'induction de l'anesthésie aura une capacité de 25 l et le dosage de TMS^{MD} est de 80 ppm. L'eau sera tamponnée avec 160 ppm de NaHCO₃. Calculez les quantités de TMS^{MD} et de NaHCO₃ nécessaires.
4. Vous devez mettre un groupe de morues sous sédation pour les transférer dans d'autres installations. Les poissons seront transportés dans un camion-citerne d'une capacité de 1 m³ d'eau (1000 l). Calculez la quantité d'Aquacalm^{MD} nécessaire pour obtenir un dosage de 0,25 ppm dans le camion-citerne.
5. Vous souhaitez mettre un groupe de saumons sous sédation avant de les anesthésier afin de minimiser le stress causé par la capture. Les poissons se trouvent dans un bassin de stabulation de 500 l. La circulation d'eau a été interrompue et l'oxygénation augmentée.

Calculez la quantité d'Aquacalm^{MD} nécessaire pour obtenir un dosage de 0,4 ppm dans le bassin de 500 litres.

Les poissons seront anesthésiés dans un bac de 20 litres avec du TMS^{MD} à une concentration de 50 ppm. Calculez la quantité de TMS^{MD} nécessaire.

6. Vous devez anesthésier des alevins pour procéder à l'ablation de leur nageoire adipeuse à des fins de marquage. Le bac d'anesthésie contient 10 l d'eau et le dosage de TMS^{MD} est de 50 ppm ; l'eau sera tamponnée avec du bicarbonate de sodium à une concentration de 100 ppm. Calculez les quantités de TMS^{MD} et de NaHCO₃ nécessaires.
7. Certains chercheurs préfèrent utiliser des solutions-mères d'anesthésiques et de sédatifs. Comment prépareriez-vous 500 ml d'une solution-mère de TMS^{MD} à une concentration de 50 mg/ml ?
8. Vous souhaitez anesthésier un saumon quinnat de 250 g avec du TMS^{MD} (dosage : 70 ppm). Votre solution-mère a une concentration de 100 mg/ml. Calculez la quantité de solution-mère à ajouter dans un bac de 20 l pour obtenir un dosage de 70 ppm.



Réponses

1. 1 gallon (GB) = 4,545 litres
5 gallons x 4,545 l/gallon = 22,73 l dans un seau de 5 gallons
2. (150 litres)(180mg/l TMS^{MD}) = 27 000 mg
27 000 mg ÷ 1000 mg/g = 27 g de TMS^{MD} à ajouter aux 150 l d'eau de mer
3. (25 litres)(80 mg/l TMS^{MD}) = 2000 mg
2000 mg ÷ 100 mg/g = 2 grammes de TMS^{MD} à ajouter dans le bac de 25 l

(25 litres)(160 mg/l NaHCO₃) = 4000 mg
4000 mg ÷ 1000 mg/g = 4 grammes de NaHCO₃ à ajouter dans le bac de 25 l
4. (1000 litres)(0,25 mg/l) = 250 mg
250 mg ÷ 1000 mg/l = 0,25 g
5. Sédation (Aquacalm^{MD})
(500 litres)(0,4 mg/l) = 200 mg
200 mg ÷ 1000 mg/l = 0,20 g

Anesthésie (TMS^{MD})
(20 litres)(50 mg/l) = 1000 mg
1000 mg ÷ 1000 mg/l = 1 g
6. TMS^{MD}
(10 litres)(50 mg/l) = 500 mg
500 mg ÷ 1000 mg/g = 0,5 g

NaHCO₃
(10 litres)(100 mg/l) = 1000 mg
1000 mg ÷ 1000 mg/g = 1 g
7. Concentration souhaitée : 50 mg/ml ; volume final souhaité : 500 ml
(500 ml)(50 mg/ml) = 25 000 mg
(25 000 mg) ÷ 1000 mg/g = 25 g
Ajoutez 25 g de TMS^{MD} aux 500 ml d'eau pour obtenir une solution-mère à une concentration de 50 mg/ml.
8. (20 litres)(70 mg/l) = 1400 mg nécessaires
La solution-mère a une concentration de 100 mg/ml

1400 mg ÷ 100 mg/ml = 14 ml de solution-mère à ajouter au bassin de 20 l.



Calculs pour l'exercice élémentaire

Préparation d'une solution-mère

50 ml d'une solution-mère de TMS^{MD} à une concentration de 50 mg/ml :

(volume de solution nécessaire, en ml)(concentration souhaitée, en mg/ml) = mg à ajouter

$$(50 \text{ ml})(50 \text{ mg/ml}) = \underline{\hspace{2cm}} \text{ mg}$$

Convertissez les mg en g pour des raisons pratiques :

$$\underline{\hspace{2cm}} \text{ mg} \div 1000 \text{ mg/g} = \underline{\hspace{2cm}} \text{ g}$$

Ajoutez g de TMS^{MD} dans l'eau distillée pour compléter à 50 ml.

Préparation d'une solution-mère tampon (eau douce uniquement)

Si les poissons sont anesthésiés dans de l'eau douce avec du TMS^{MD}, vous devez tamponner l'eau. La concentration du tampon de bicarbonate utilisée doit être égale au double de la concentration du TMS^{MD}.

50 ml d'une solution-mère de NaHCO₃ à une concentration de 100 mg/ml :

(volume de solution nécessaire, en ml)(concentration souhaitée, en mg/ml) = mg à ajouter

$$(50 \text{ ml})(100 \text{ mg/ml}) = \underline{\hspace{2cm}} \text{ mg}$$

Convertissez les mg en g pour des raisons pratiques :

$$\underline{\hspace{2cm}} \text{ mg} \div 1000 \text{ mg/g} = \underline{\hspace{2cm}} \text{ g}$$

Ajoutez g de NaHCO₃ dans l'eau distillée pour compléter à 50 ml.



Calculez le volume de solution-mère à ajouter dans chaque aquarium de 10 l pour obtenir la concentration finale souhaitée et complétez le tableau suivant :

	25 ppm	50 ppm	75 ppm	100 ppm
Volume nécessaire de solution-mère de TMS^{MD} (50 mg/ml)				
	50 ppm	100 ppm	150 ppm	200 ppm
Volume nécessaire de tampon NaHCO₃ (100 mg/ml)				

La procédure d'anesthésie

- Durant cette procédure, les poissons seront exposés à quatre concentrations différentes de TMS^{MD} : 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm et 100 ppm.
- Remplissez chaque aquarium (ou autre récipient) avec 10 litres d'eau. Vérifiez que le bac d'anesthésie et le bac de récupération sont prêts.
- Installez des diffuseurs dans les deux bacs et réglez-les de manière à obtenir les plus fines bulles possibles afin d'augmenter au maximum la surface d'échange gazeux.
- Assurez-vous que les paramètres de qualité de l'eau ne changent pas.
- Ajoutez l'anesthésique dans le premier bassin (25 ppm). À l'aide d'une seringue, ajoutez la solution-mère de TMS^{MD}. Tamponnez-la avec la solution-mère de NaHCO₃ (eau douce uniquement). Ne mélangez pas les solutions-mères car elles précipiteront. Ajoutez le TMS^{MD} puis le tampon.
- Mesurez la température et l'oxygène dissous au début de l'exercice ; mesurez également le pH (eau douce uniquement) ; notez les paramètres de qualité de l'eau.
- Sortez délicatement le poisson de son bassin à l'aide d'une épuisette sans nœud et mettez-le dans le bac d'anesthésie ; déclenchez le chronomètre. Le poisson ne doit rester hors de l'eau plus de quelques secondes.



- Mesurez la fréquence respiratoire en comptant le nombre de mouvements operculaires sur une période de 15 secondes. Renouvelez l'opération trois fois pendant que le poisson se trouve dans le bain anesthésiant : au début de la procédure, lorsque survient la perte de l'équilibre, puis l'absence de réaction au stimulus.
- Notez le temps écoulé entre le début de la procédure et la perte de l'équilibre.
- Notez le temps écoulé jusqu'à l'absence de réaction au stimulus. Le poisson doit encore respirer lentement et régulièrement.
- Transférez le poisson dans un bac de récupération avec aération et notez le temps chronométré.
- Mesurez et notez la fréquence respiratoire lorsque le poisson commence à retrouver l'équilibre et qu'il semble avoir un comportement normal.
- Répétez cette procédure pour chacune des quatre concentrations d'anesthésique, afin de comprendre les effets du dosage des médicaments.
- Mesurez et notez la température, l'oxygène dissous et le pH (eau douce uniquement) à la fin de la procédure.
- Calculez le temps d'induction et de récupération, ainsi que la fréquence respiratoire (multipliez les mouvements operculaires sur chaque période de 15 secondes par 4 et vous obtiendrez les respirations par minute).

Après l'exercice de formation

- Si des poissons sont euthanasiés, les participants doivent recevoir des instructions claires concernant l'élimination des carcasses.
- Si les poissons survivent à l'anesthésie, surveillez-les davantage au cours des 2 à 3 semaines suivant la manipulation.
- Les bains anesthésiants doivent être éliminés conformément aux dispositions locales relatives à la gestion des déchets.
- Désinfectez la zone de travail après la manipulation (informez les participants des procédés normalisés de fonctionnement en matière de biosécurité applicables sur le site).
- Les participants doivent se laver les mains avec du savon désinfectant.



- Mettez à jour vos notes en y indiquant le nombre de poissons euthanasiés pendant cette séance (s'il y en a).
- Mettez également à jour vos notes sur l'utilisation des médicaments en y incluant l'utilisation des anesthésiques.



Tableaux à compléter pendant l'exercice élémentaire

25 ppm	Temps chronométré	Temps entre chaque étape (mm:ss)	Mouvements operculaires sur 15 sec.	Nombre de respirations par minute
Perte de l'équilibre				
Absence de réaction aux stimuli (le poisson est anesthésié)				
Transfert dans bac de récupération				
Réponse aux stimuli				
Reprise de l'équilibre				
Comportement normal (le poisson a récupéré)				

Qualité de l'eau (bac à 25 ppm)	Début de la procédure	Fin de la procédure	
Oxygène dissous (mg/l et %sat)			
Température (°C)			
pH			



50 ppm	Temps chronométré	Temps entre chaque étape (mm:ss)	Mouvements operculaires sur 15 sec.	Nombre de respirations par minute
Perte de l'équilibre				
Absence de réaction aux stimuli (le poisson est anesthésié)				
Transfert dans bac de récupération				
Réponse aux stimuli				
Reprise de l'équilibre				
Comportement normal (le poisson a récupéré)				

Qualité de l'eau (bac à 50 ppm)	Début de la procédure	Fin de la procédure	
Oxygène dissous (mg/l et %sat)			
Température (°C)			
pH			



75 ppm	Temps chronométré	Temps entre chaque étape (mm:ss)	Mouvements operculaires sur 15 sec.	Nombre de respirations par minute
Perte de l'équilibre				
Absence de réaction aux stimuli (le poisson est anesthésié)				
Transfert dans bac de récupération				
Réponse aux stimuli				
Reprise de l'équilibre				
Comportement normal (le poisson a récupéré)				

Qualité de l'eau (bac à 75 ppm)	Début de la procédure	Fin de la procédure	
Oxygène dissous (mg/l et %sat)			
Température (°C)			
pH			



100 ppm	Temps chronométré	Temps entre chaque étape (mm:ss)	Mouvements operculaires sur 15 sec.	Nombre de respirations par minute
Perte de l'équilibre				
Absence de réaction aux stimuli (le poisson est anesthésié)				
Transfert dans bac de récupération				
Réponse aux stimuli				
Reprise de l'équilibre				
Comportement normal (le poisson a récupéré)				

Qualité de l'eau (bac à 100 ppm)	Début de la procédure	Fin de la procédure	
Oxygène dissous (mg/l et %sat)			
Température (°C)			
pH			



ANNEXE B : Exercice avancé

Les participants apprennent à associer sédation et anesthésie. Première étape : sédation avec de l'Aquacalm^{MD} ; deuxième étape : anesthésie avec du TMS^{MD}.

Formation théorique requise :

1. « Les poissons d'expérimentation »
2. Les lignes directrices du CCPA sur : le soin et l'utilisation des poissons en recherche, en enseignement et dans les tests (2005), section sur l'anesthésie
3. Exercice élémentaire (introduction à l'anesthésie) ou expérience dans ce domaine
4. Formation SIMDUT
5. Synthèse théorique incluse en annexe C

Avant de commencer l'exercice

- Gardez les poissons à jeun de 18 à 72 heures avant l'exercice. Placez sur le bassin un écriteau portant l'inscription « NPO » (*nil per os*, rien par voie orale) jusqu'à l'heure ou la date fixée par le formateur.
- Demandez au formateur quels seront les récipients et les dosages utilisés dans cet exercice.
- Préparez une solution-mère de TMS^{MD} et d'Aquacalm^{MD} ou pesez la quantité requise de chaque produit.
- Préparez une solution-mère de NaHCO₃ (eau douce uniquement) ou pesez la quantité souhaitée de bicarbonate de sodium.

Détails de la procédure

- Les poissons seront mis sous sédation dans leur bassin d'origine. Ils seront ensuite transférés dans le bain anesthésiant. La sédation préalable permet de limiter le stress causé par les manipulations.
- Préparez le bac pour la sédation (0,5 ppm d'Aquacalm^{MD}), le bac d'anesthésie (70 ppm de TMS^{MD}) et le bac de récupération.

Sédation dans le bassin d'origine

- Installez les diffuseurs dans le bassin d'origine pour améliorer son oxygénation.
- Interrompez la circulation d'eau (entrée et sortie) du bassin d'origine.
- Ajoutez l'Aquacalm^{MD} dans le bassin et déclenchez le chronomètre.
- Surveillez le comportement et la fréquence respiratoire des poissons ; complétez le tableau ci-joint afin de suivre les différents stades de



l'anesthésie tout au long de la procédure.

- La sédation permet de tranquilliser les poissons mais ne doit pas provoquer la perte de l'équilibre avant l'induction de l'anesthésie. Les poissons réagissent à peine lors de leur capture avec une épuisette.

Anesthésie

- Transférez un seul poisson dans le bac d'anesthésie. Surveillez son comportement et sa fréquence respiratoire pendant l'anesthésie et notez vos observations dans le deuxième tableau.
- Déterminez à quel moment survient la perte totale de l'équilibre, de tonus musculaire et de réflexes médullaires sans modification de la régularité des mouvements operculaires. Cette phase est idéale pour les manipulations, les injections, les prélèvements sanguins, l'étiquetage ou le marquage, les biopsies ou autres procédures invasives.

Récupération

- Transférez le poisson dans le bac de réveil, surveillez la fréquence respiratoire et chronométrez le temps de récupération ; notez vos observations dans le troisième tableau.

ou

- Laissez un ou plusieurs poissons dans le bac d'anesthésie jusqu'à l'apparition de la paralysie médullaire. Étudiez les procédures du modèle sur l'euthanasie. Les poissons peuvent être utilisés pour expliquer les procédures d'échantillonnage ou pour les cours d'anatomie.

Après l'exercice de formation

- Les participants doivent se laver les mains avec du savon désinfectant.
- Désinfectez la zone de travail après la manipulation (vous devez connaître les procédés normalisés de fonctionnement en matière de biosécurité applicables sur le site).
- Surveillez davantage les poissons au cours des 2 à 3 semaines suivant la manipulation.
- Mettez à jour vos notes en y indiquant le nombre de poissons euthanasiés pendant cette séance (s'il y en a).
- Mettez également à jour vos notes sur l'utilisation des médicaments en y incluant l'utilisation des anesthésiques.



Complétez les tableaux suivants pendant l'exercice avancé

Temps (mm:ss)	Fréquence respiratoire	Comportement	Réponse au stimulus	Commentaires
00:00				Ajoutez le métomidate dans le bassin d'origine

Temps (mm:ss)	Fréquence respiratoire	Comportement	Réponse au stimulus	Commentaires
				Mettez le poisson dans le bac d'anesthésie



Temps (mm:ss)	Fréquence respiratoire	Comportement	Réponse au stimulus	Commentaires
				Transférez un ou plusieurs poissons dans le bac de récupération

Temps (mm:ss)	Fréquence respiratoire	Comportement	Réponse au stimulus	Commentaires
				Laissez un ou plusieurs poissons dans le bain anesthésiant pour les euthanasier.



ANNEXE C

Synthèse théorique : Anesthésie des poissons à nageoires

Références

Bulletin technique Alpharma sur le MS222 ou méthanesulfonate de tricaine (Alpharma Technical Bulletin 5/2001 on MS222)
<http://www.alpharmaanimalhealth.co.uk/VPDF/MS%20222.pdf>

Bowser, P.R., « Anaesthetic options for fish », dans Gleed, R.D. et Ludders, J.W. (Éds.), *Recent Advances in Veterinary Anaesthesia and Analgesia: Companion animals*, Ithaca, New York (USA) : International Veterinary Information Service (www.ivis.org), 2001.

Brown, L., « Anaesthesia and Restraint », dans Stoskopf, M.K. (Éd.), *Fish Medicine*, Philadelphia : W.B. Saunders Company, 1993, 882 pages.

Burka, J.F., Hammell, K.L., Horsberg, T.E., Johnson, G.R. Rainnie, D.J. et Speare, D.J., « Drugs in salmonid aquaculture – A Review » dans *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* n° 20, p. 333-349, 1997.

Théorie élémentaire

Définitions

Acidose : état pathologique qui résulte de l'accumulation du contenu acide ou de la déplétion de la réserve alcaline (bicarbonate) du sang et des tissus, caractérisé par une baisse du pH.

Anesthésie : généralement définie comme un état provoqué par l'utilisation d'un agent externe qui entraîne une perte de sensibilité par une dépression du système nerveux.

Analgésie : atténuation ou suppression de la perception de la douleur.

Aquacalm^{MD} : au Canada, appellation commerciale du métomidate.

Asphyxie : état provoqué par un manque d'oxygène entraînant une mort imminente ou réelle.

Hypnose : sommeil artificiel ou transe ressemblant au sommeil qui peut être interrompu(e) par des stimuli.

Hypoxie : diminution de la quantité d'oxygène que le sang distribue aux tissus de l'organisme.

Induction : déclenchement d'une anesthésie ou d'une perte de conscience au moyen d'agents appropriés.



Narcose : stupeur ou sédation provoquée par un médicament, pendant laquelle le patient ne ressent pas de douleur, avec ou sans hypnose.

Sédation : état de diminution de la perception ou de l'anxiété. La sédation des poissons est souvent utilisée pour limiter le stress causé par les manipulations et le transport. Attention : la sédation n'a pas d'effet analgésique.

Synapse : zone de contact entre deux neurones ou entre un neurone et un organe effecteur.

TMS^{MD} : au Canada, appellation commerciale du méthanesulfonate de tricaïne.

ppm : parties par million, unité de mesure équivalente aux milligrammes par litre.

- Les poissons doivent être gardés à jeun de 18 à 72 heures avant l'anesthésie, pour prévenir les vomissements et la contamination fécale de l'eau pendant l'anesthésie. L'eau contaminée par les vomissements ou les selles peut endommager les branchies, entraîner des infections de la peau et favoriser la transmission des maladies.
- Les anesthésiques approuvés par Santé Canada pour utilisation sur les poissons sont délivrés uniquement sur ordonnance vétérinaire (annexe de médicaments 1). Le méthanesulfonate de tricaïne (TMS^{MD}) et le métomidate (Aquacalm^{MD}) sont les seuls médicaments approuvés disponibles.
- La benzocaïne est un médicament en vente libre (annexes de médicaments 2 ou 3). Approuvée pour utilisation sur les espèces terrestres, elle est utilisée sur les poissons en dérogation des directives de l'étiquette¹.
- Des composés chimiques comme l'huile de clou de girofle et le 2-phénoxyéthanol ne sont pas approuvés par Santé Canada pour utilisation sur les poissons. Les chercheurs doivent sérieusement prendre en compte les conséquences juridiques et physiologiques qu'implique l'utilisation sur des animaux de laboratoire de produits n'ayant pas subi les analyses approfondies imposées par le processus d'approbation de Santé Canada.

¹ L'utilisation d'un médicament en dérogation des directives de l'étiquette, parfois appelé « utilisation hors étiquette », désigne l'utilisation de tout médicament d'une façon non conforme aux directives de l'étiquette ou de la notice d'accompagnement du médicament approuvée par Santé Canada.



- Il est recommandé d'utiliser des concentrations connues pour les bains anesthésiants. Si la dose est trop faible, le temps d'induction est plus long, ce qui est source de stress pour les poissons ; si elle est trop élevée, le temps de récupération est plus long et les poissons risquent l'hypoxie, l'acidose et la mort.
- Certains facteurs peuvent avoir une incidence sur la réaction à l'anesthésie, notamment l'âge, la taille, l'espèce, la température et le pH de l'eau, la présence de maladies et l'état de reproduction. Par conséquent, avant d'anesthésier un grand nombre de poissons, il faut toujours tester avec quelques individus un nouveau bain anesthésiant afin de vérifier le temps d'induction et d'évaluer les modifications comportementales des poissons.
- Familiarisez-vous avec les différents stades de l'anesthésie tels que décrits au tableau 1 à la fin de cette synthèse.
- Si vous anesthésiez des espèces que vous ne connaissez pas bien, commencez toujours par utiliser le dosage indiqué sur l'étiquette du médicament, puis augmentez-le progressivement au besoin. Le temps d'induction ne doit pas dépasser 2 à 3 minutes.
- Le bac d'anesthésie et le bac de récupération sont oxygénés afin d'assurer une qualité d'eau appropriée. Vérifiez que les diffuseurs produisent les plus fines bulles possibles, car les bulles larges ne permettent pas d'obtenir une surface d'échange gazeux efficace.
- Les poissons doivent être surveillés en permanence tout au long des procédures d'anesthésie et de récupération.
- Il faut contrôler la qualité de l'eau pendant les procédures d'anesthésie, surtout la température et l'oxygène dissous. Pour la plupart des poissons osseux d'eau froide, si la température de l'eau varie de plus de 2 °C ou si le niveau d'oxygène dissous est inférieur à 5 mg/l, le bain anesthésiant doit être renouvelé. Le bain doit également être renouvelé si des débris de poisson sont présents dans l'eau.
- La qualité de l'eau a une incidence sur la réaction à l'anesthésie : la température et le pH agissent sur le taux métabolique des poissons et sur l'absorption du médicament dans les branchies.
- Le méthanesulfonate de tricaine (TMS^{MD}) étant relativement acide, si vous utilisez de l'eau douce pour une anesthésie avec du TMS^{MD}, il faut tamponner l'eau afin de maintenir un pH neutre. Par ailleurs, les poissons produisent du CO₂ en respirant, ce qui favorise également



une baisse du pH. Inutile de tamponner l'eau de mer car elle l'est déjà bien assez.

- Les solutions-mères de TMS^{MD} et de NaHCO₃ précipiteront si elles sont mélangées. Ajoutez le TMS^{MD} dans le bac d'anesthésie, puis le tampon et enfin les poissons.
- Ni les poissons ni les bacs ne doivent être exposés directement à la lumière solaire. Les solutions de TMS^{MD} deviennent toxiques après une exposition à une lumière intense. Anesthésiez donc les poissons à l'ombre ou à l'intérieur des installations.
- Utilisez uniquement des récipients inertes (en verre ou en plastique) pour anesthésier les poissons. Le TMS^{MD} devient toxique au contact de récipients en métal (p. ex. : zinc ou cuivre).
- Tout le matériel ainsi que les gants (ou les mains) utilisés pour manipuler les poissons doivent être lisses. Il faut absolument les mouiller avant de toucher les poissons. Une lésion de la couche de mucus des poissons peut augmenter la sensibilité aux épidémies après la manipulation.
- Des produits tels que Vidalife^{MD} ou Stresscoat^{MD} peuvent être utilisés pour protéger le mucus des poissons pendant les manipulations.
- Le stress engendré par une anesthésie et par des manipulations peut rendre les poissons plus vulnérables aux maladies. Après un événement stressant, surveillez davantage la morbidité, la mortalité et le taux de mortalité. Maintenez une surveillance accrue pendant la période d'incubation des maladies graves (généralement 2 à 3 semaines après la manipulation).
- Les bains anesthésiants doivent être éliminés conformément aux dispositions locales relatives à la gestion des déchets.



Tableau 1. Stades de l'anesthésie (Bowser, 1991)		
Stade	Description	Réponse comportementale du poisson
0	Normal	Réaction aux stimuli externes ; fréquence operculaire et tonus musculaire normaux
1	Sédation légère	Légère perte de réactivité aux stimuli externes ; légère diminution de la fréquence operculaire ; équilibre normal
2	Sédation profonde	Perte totale de réactivité à l'exception des réponses aux stimuli externes forts ; légère diminution de la fréquence operculaire ; équilibre normal
3	Perte partielle de l'équilibre	Perte partielle du tonus musculaire ; nage irrégulière ; augmentation de la fréquence operculaire ; réactivité aux stimuli tactiles forts et aux vibrations intenses uniquement
4	Perte totale de l'équilibre	Perte totale du tonus musculaire et de l'équilibre ; fréquence operculaire lente mais régulière ; perte des réflexes médullaires
5	Perte des réflexes	Perte totale de réactivité ; mouvements operculaires lents et irréguliers ; fréquence cardiaque très lente ; perte de tous les réflexes
6	Paralysie médullaire (stade d'asphyxie)	Interruption des mouvements operculaires souvent suivie rapidement d'un arrêt cardiaque



Théorie avancée

- Anesthésie mixte : pour les espèces terrestres vertébrées, on utilise habituellement plusieurs produits chimiques pour provoquer une narcose, une relaxation musculaire et une analgésie. En règle générale, l'utilisation simultanée de plusieurs composés permet de réduire la dose de chaque produit.
- Peu de médicaments sont disponibles pour utilisation sur les poissons ; en conséquence, il est actuellement impossible de pratiquer une véritable anesthésie mixte. L'utilisation conjointe de l'Aquacalm^{MD}, comme hypnotique, et du TMS^{MD}, comme anesthésique général (et comme éventuel analgésique), est la seule recommandée. Cette combinaison permet de contrôler le stress de manière très efficace et pourrait également être utilisée comme anesthésique local et analgésique.
- Mécanisme d'action du métomidate (Aquacalm^{MD})
 - Aquacalm^{MD} est un agent hypnotique non barbiturique à base d'imidazole.
 - Le mécanisme d'action à l'origine de la dépression du système nerveux central n'est pas connu avec certitude. Les imidazoles stimuleraient l'activité des voies inhibitrices GABA dans le système nerveux central.
 - Utilisés seuls, les agents hypnotiques n'ont pas d'effet analgésique.
 - Aquacalm^{MD} bloque la synthèse de cortisol en inhibant la 11 β -hydroxylation du cholestérol (Brown 1993). Bloquer la production de cortisol peut empêcher les effets négatifs du stress chez les poissons.
 - Le délai d'attente de l'Aquacalm^{MD} n'a pas encore été établi.
- Mécanisme d'action du métanésulfonate de tricaïne (TMS^{MD})
 - Dérivé de la benzocaïne, le TMS^{MD} agit de manière similaire.
 - En bloquant les courants entrants de sodium à la surface des membranes neuronales, ce composé interrompt la production et la transmission des influx nerveux. Le TMS^{MD} agit directement sur le système nerveux central, le système cardiovasculaire, les



jonctions neuromusculaires et les synapses ganglionnaires (Alpharma, 2001).

- Capable d'agir aux jonctions neuromusculaires, ce composé provoque une relaxation musculaire et une perte des réflexes médullaires.
- Le foie est le principal site de métabolisme du TMS^{MD} bien qu'une métabolisation se produise également dans le rein, le sang et les tissus musculaires. L'organisme produit un métabolite polaire, excrété par le rein, et un métabolite non polaire, excrété par les branchies (Alpharma, 2001).
- Le délai d'attente du TMS^{MD} est de 5 jours (température de l'eau supérieure à 10 °C) ou de 21 jours (température de l'eau inférieure à 10 °C).
- Nous ne traitons pas ici d'autres produits chimiques et méthodes car cela dépasse l'objet de ce modèle. Les chercheurs doivent sérieusement prendre en compte les conséquences juridiques et physiologiques qu'implique l'utilisation sur des animaux de laboratoire de tout produit chimique.

© SA MAJESTÉ LA REINE DU CHEF DU CANADA, représentée par le ministre des Pêches et des Océans du Canada, 2004.