



### **3.0 Euthanasie des poissons à nageoires**

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

#### **3.1 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'euthanasie humanitaire des poissons d'expérimentation. Les dosages de médicaments indiqués sont étudiés pour les salmonidés. Si d'autres espèces sont euthanasiées, les formateurs devront adapter les dosages et les techniques mentionnés dans ce document. 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 une ou plusieurs des procédures avant de les autoriser à euthanasier 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.

#### **3.2 Raison d'être**

Dans le cadre des recherches scientifiques, il est souvent nécessaire de sacrifier des poissons pour des raisons d'échantillonnage, de respect des points limites humanitaires et à la fin des protocoles expérimentaux. D'un point de vue éthique, les chercheurs se doivent de réduire au minimum la douleur et/ou la détresse de tous les animaux de laboratoire. Seules les méthodes réputées acceptables par le CCPA doivent être pratiquées.

#### **3.3 Autorité**

Le vétérinaire (membre du personnel ou consultant) ou le Comité de protection des animaux sont tenus de fournir des informations sur les méthodes d'euthanasie acceptables, et de former le personnel à ces techniques. Les Comités de protection des animaux peuvent déléguer l'enseignement de ces procédures à une personne possédant une expérience avérée dans le domaine de l'euthanasie humanitaire. Avant de commencer les exercices, le personnel doit être formé aux méthodes d'euthanasie.

#### **3.4 Objectifs de cette formation**

1. Apprendre les méthodes d'euthanasie humanitaire pour les poissons à nageoires.
2. Comprendre les conséquences de chaque méthode sur les poissons et les effets éventuels sur la sélection et la collecte de tissus.



3. Localiser au sein des installations un ou plusieurs emplacements acceptables pour pratiquer l'euthanasie.
4. Localiser au sein des installations un ou plusieurs emplacements appropriés pour l'échantillonnage.
5. Comprendre où et comment éliminer le sang, les carcasses et autres sous-produits de la procédure.
6. Comprendre les techniques appropriées de désinfection à respecter après la procédure (informez les participants des procédés normalisés de fonctionnement en matière de biosécurité applicables sur le site).

### **3.5 Formation théorique (à étudier avant les travaux pratiques)**

1. « Les poissons d'expérimentation ».
2. Lignes directrices du CCPA sur l'euthanasie.
3. Avoir suivi les modèles sur l'anatomie et l'anesthésie, ou bien avoir de l'expérience ou une formation dans ces deux domaines.
4. Formation SIMDUT.
5. Synthèse théorique incluse en annexe A.

### **3.6 Détails de la procédure**

Durant cette séance de formation, les participants peuvent étudier les méthodes d'euthanasie suivantes :

1. Surdose d'anesthésique avec une solution de TMS<sup>MD</sup> (tamponnée si l'anesthésie est pratiquée dans de l'eau douce)
2. Anesthésie puis exsanguination
3. Anesthésie puis décérébration, dislocation cervicale ou décapitation
4. Abattage d'un coup violent sur la tête puis décérébration ou exsanguination
5. Techniques d'euthanasie pour une population entière de poissons (discussion)

#### **3.6.1 Durée**

Préparation : 1 heure

Théorie et pratique : 3 heures

#### **3.6.2 Matériel nécessaire**

- Poissons : la quantité d'individus est fonction du nombre de participants ; les espèces utilisées dépendent quant à elles de la disponibilité et des besoins du site
- TMS<sup>MD</sup> (et tampon de NaHCO<sub>3</sub> si l'anesthésie est pratiquée dans de l'eau douce). Dans cet exemple, le dosage est de 200 ppm, mais les formateurs doivent le modifier si nécessaire, en s'appuyant sur leur expérience avec différentes espèces
- Divers seaux et épuisettes (pour faire la démonstration des surdoses d'anesthésique, utilisez de préférence un récipient transparent afin que les participants puissent surveiller plus facilement les poissons)
- Diffuseurs (pierres d'aération) ; air comprimé ou oxygène
- Assommoir (pour euthanasier les poissons de plus grande taille)



- Sondes pour décérébration (adaptées à la taille du poisson) ; scalpel pour dislocation cervicale
- Ciseaux bien aiguisés ou scalpel pour l'exsanguination
- Couteau aiguisé ou scalpel pour la décapitation
- Papier absorbant ou seau pour retenir le sang résultant de l'exsanguination
- Chronomètre
- Gants et lunettes antiéclaboussures à porter durant la manipulation des poissons ou de la solution anesthésiante
- Désinfectant pour nettoyer les installations après l'euthanasie
- Thermomètre pour contrôler la température de l'eau du bain anesthésiant

### 3.6.3 Procédure

Le formateur doit montrer toutes les procédures aux participants avant de les autoriser à mettre en pratique ces méthodes. Les poissons euthanasiés pendant cette séance peuvent être utilisés pour les exercices d'autres modèles de formation (p. ex. : anatomie, mensuration et pesée, biopsie, prélèvement sanguin ou étiquetage).

C'est aux formateurs de juger quelles sont les procédures les plus adaptées aux espèces courantes à l'étude dans les installations en question. Il est recommandé d'enseigner aux participants toutes les techniques mentionnées dans ce modèle ; ils pourront ainsi choisir la solution appropriée lorsqu'ils devront euthanasier des poissons de différentes espèces. Les participants doivent maîtriser au moins une méthode d'euthanasie.

#### 3.6.3.1 Surdose d'anesthésique

- Préparez une solution euthanasiante de TMS<sup>MD</sup>. Une concentration de 200 ppm est généralement suffisante (variable selon les espèces). La solution doit être tamponnée avec du NaHCO<sub>3</sub> (eau douce uniquement). Le bac doit être oxygéné, et sa température doit être identique à celle du bassin d'origine du poisson. Le contrôle de la température de l'eau tout au long de la procédure permet de réduire le stress initial provoqué par l'introduction du poisson dans la solution euthanasiante, qui est très concentrée.
- Transférez un poisson dans le bac d'euthanasie et déclenchez le chronomètre.
- Surveillez le poisson tout au long de la procédure.
- Chronométrez le temps écoulé jusqu'à l'arrêt des mouvements operculaires. Les participants auront ainsi une indication du temps nécessaire pour obtenir l'arrêt respiratoire, à la température et au dosage utilisés dans le cadre de cette démonstration.



- Vous pouvez enlever les diffuseurs de l'eau quand le poisson a atteint le stade d'anesthésie chirurgicale.
- Si vous n'utilisez aucune méthode physique pour l'euthanasie, laissez le poisson dans le bac pendant au moins 5 minutes après l'arrêt respiratoire.
- Assurez-vous que les participants sont bien informés du fait que, chez certaines espèces de poissons, l'activité cérébrale continue malgré une hypoxie prolongée systémique et du système nerveux central.
- Informez les participants que, même après une surdose d'anesthésique ou des méthodes physiques d'euthanasie, le cœur du poisson peut continuer à battre et des contractions musculaires peuvent être observées.

#### **Utilisez le poisson ayant subi la surdose aux fins de démonstration**

- Quand le formateur est sûr que le poisson est bien mort suite à la surdose, il peut l'utiliser pour identifier les points de repère anatomiques qui seront utiles dans les procédures que les participants suivront ultérieurement.
- Signalez les caractéristiques de l'anatomie externe utiles pour les méthodes physiques d'euthanasie :
  - Emplacement du cerveau et du début de la colonne vertébrale (techniques de décérébration, de décapitation et de dislocation cervicale)
  - Emplacement des arcs branchiaux et du pédoncule (techniques d'exsanguination).
- Petits poissons : à l'aide d'un scalpel, enlevez le tissu recouvrant la partie supérieure du crâne afin d'exposer le cerveau et d'identifier la jonction entre le crâne et la première vertèbre.
- Grands poissons : il est important d'insister sur la profondeur de l'incision requise pour arriver à sectionner la colonne vertébrale. Nota : chez les grands poissons, l'exsanguination s'avère souvent plus facile que la dislocation cervicale.
- Inconvénients de cette méthode :
  - Présence de résidus de médicament.
  - Difficulté pour établir à quel moment précis survient la mort du poisson.



- Avantages :
  - Méthode la moins traumatisante.
  - Méthode moins stressante pour les poissons et pour le personnel.
  - Méthode exigeant moins de travail.

### **3.6.3.2 Anesthésie suivie d'une exsanguination**

- Anesthésiez un poisson jusqu'à l'arrêt respiratoire et sortez-le de l'eau.
- Petits poissons (jusqu'à plusieurs centaines de grammes) : coupez la queue au niveau du pédoncule et laissez le poisson saigner sur du papier absorbant.
- Grands poissons : prenez le poisson par la queue et coupez les arcs branchiaux à l'aide d'un scalpel ou de ciseaux. Les poissons de très grande taille peuvent perdre une quantité importante de sang ; suspendez-les au-dessus d'un seau ou introduisez du papier absorbant dans les arcs branchiaux pour éponger le sang.
- Inconvénients de cette méthode :
  - Présence de résidus de médicament.
  - Obligation de recueillir le sang pour des raisons de biosécurité.
  - Endommagement des tissus branchiaux et du pédoncule rendant l'étude de ces tissus moins appropriée.
- Avantages :
  - Si le poisson est saigné avant la collecte d'échantillons, les prélèvements histopathologiques ne présentent pas de congestion.
  - La surdose ne permet pas d'établir facilement à quel moment survient la mort du poisson. Elle doit être associée à une méthode physique d'euthanasie pour garantir une mort rapide.

### **3.6.3.3. Dislocation cervicale, décérébration ou décapitation après l'anesthésie**

- Le formateur doit décider quelle est la technique la plus appropriée (dislocation cervicale, décérébration ou décapitation) selon l'espèce et la taille du poisson à euthanasier.
- Le formateur peut montrer les trois techniques mentionnées sur un seul poisson avant d'autoriser les participants à mettre en pratique ces méthodes.



- Anesthésiez un poisson en respectant la procédure mentionnée ci-dessus puis sortez-le du bac d'euthanasie après l'arrêt respiratoire. Par ailleurs, si des poissons morts provenant d'une autre source sont disponibles, ils peuvent également être utilisés à des fins pédagogiques.

#### **3.6.3.3.1 Dislocation cervicale**

- Sur la partie externe du poisson, signalez l'emplacement de la jonction du crâne et de la première vertèbre cervicale.
- Tenez fermement le poisson et montrez comment utiliser un scalpel ou un couteau pour sectionner le crâne et la première vertèbre.

#### **3.6.3.3.2 Décérébration**

- La décérébration d'un poisson est plus facile s'il a subi préalablement une dislocation cervicale car la colonne vertébrale est visible.
- Insérez une sonde pointue dans le cerveau et plantez-la à plusieurs reprises tout autour afin d'assurer la destruction du tissu cérébral (décérébration simple).
- Insérez la sonde pointue tout le long de la colonne vertébrale afin de détruire le tissu nerveux (décérébration double).

#### **3.6.3.3.3 Décapitation**

- Sectionnez la tête du poisson au niveau de la jonction du crâne et de la première vertèbre à l'aide d'un scalpel ou d'un couteau.
- Inconvénients de ces méthodes physiques d'euthanasie :
  - Elles peuvent endommager des tissus destinés à l'échantillonnage, tels que les tissus du cerveau, de la colonne vertébrale, des branchies, de la thyroïde ou du rein antérieur.
  - Lorsque le poisson n'est pas saigné au préalable, la zone de travail peut être contaminée si le sang n'est pas correctement recueilli.
  - Lorsque le poisson n'est pas saigné avant la décapitation, le prélèvement de tissus peut s'avérer plus difficile (saignements lors de l'incision des tissus).
- Avantages :
  - La surdose ne permet pas d'établir facilement à quel moment survient la mort du poisson. Elle doit être associée à une méthode physique d'euthanasie pour garantir une mort rapide.



- Cette méthode rapide réduit le temps d'attente nécessaire pour que le poisson se vide de son sang.

#### **3.6.3.4 Abattage d'un coup violent sur la tête suivi d'une décérébration ou d'une exsanguination**

- Le formateur doit faire une démonstration de cette méthode avant que les participants ne commencent l'exercice. Le poisson étant conscient au moment du traumatisme, il est **essentiel** que le coup soit correctement asséné.
- Les participants doivent connaître parfaitement l'anatomie de l'espèce à l'étude avant de suivre cette procédure.
- Le poisson peut se débattre vigoureusement lors de sa capture. Le formateur doit insister sur l'importance de protéger la sécurité humaine. Si vous avez des doutes quant à la capacité du participant à immobiliser le poisson pour cette procédure, l'animal doit être préalablement anesthésié.
- Prenez un poisson de son bassin d'origine et immobilisez-le dans l'épuisette ou en le tenant par la queue.
- Assénez un coup ferme sur la tête du poisson à l'aide d'un assommoir. Visez la partie supérieure de la tête située juste derrière les yeux.
- Procédez ensuite à la décérébration ou à l'exsanguination en respectant la procédure mentionnée ci-dessus.
- Inconvénients de cette méthode d'euthanasie :
  - Le personnel risque de se blesser pendant la procédure.
  - Si le coup n'est pas correctement asséné, le poisson souffrira avant de perdre conscience.
  - Le coup peut entraîner des anévrismes des branchies qui altéreront les résultats des analyses histopathologiques.
  - Après un trauma crânien, le prélèvement de tissus cérébraux devient moins utile.
- Avantages :
  - Pas de résidus de médicaments dans les tissus.
  - Pas de bain anesthésiant à éliminer.



- Moins de transport et moins de médicaments *in situ*.

### 3.6.3.5 Discussion sur l'euthanasie d'un grand nombre de poissons

- En règle générale, et pour des raisons évidentes, il est impossible de montrer la procédure pour euthanasier un grand nombre de poissons. Le formateur doit cependant aborder ce sujet avec les participants, car ils pourraient éventuellement être confrontés à une telle situation (p. ex. : à la fin d'un programme de recherche ou lors d'une épidémie).
- Au début de la procédure, interrompez la circulation d'eau qui entre dans le bassin d'origine des poissons à euthanasier.
- Réduisez le volume d'eau du bassin et ajoutez des diffuseurs pour augmenter l'oxygénation.
- Tranquillisez les poissons avec 1 ppm d'Aquacalm<sup>MD</sup> (1 gramme pour 1000 litres d'eau).
- Attendez 10 à 15 minutes pour que le sédatif agisse.
- Transférez les poissons dans une solution euthanasiante de TMS<sup>MD</sup> (200 ppm) jusqu'à leur mort ou en attendant de pouvoir appliquer en complément une méthode physique d'euthanasie (abattage d'un coup violent sur la tête, exsanguination ou décérébration).
- La désinfection du bassin doit respecter les procédés normalisés de fonctionnement en matière de biosécurité applicables sur le site.

### 3.6.4 Après l'euthanasie

- Donnez des instructions claires aux participants concernant l'élimination des carcasses.
- 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).







## ANNEXE A

### Synthèse théorique : Euthanasie des poissons à nageoires

#### Références

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](http://www.ivis.org)), 2001.

*Les lignes directrices du CCPA sur : les soins et l'utilisation des poissons en recherche, en enseignement et dans les tests (2005), section sur l'euthanasie.*

#### Définitions

**Euthanasie** : mort paisible, exempte de souffrance et de stress.

**Décérébration** : destruction du cerveau et de la colonne vertébrale par rupture physique. La ponction se fait généralement dans le trou occipital à l'aide d'une aiguille ou d'un autre objet.

**Exsanguination** : perte excessive de sang par hémorragie interne ou externe.

**Dislocation cervicale** : déplacement des os du cou. Idéalement, les surfaces osseuses doivent être complètement séparées.

**Hypoxie** : diminution de la quantité d'oxygène distribuée aux tissus.

- L'euthanasie doit être pratiquée de façon humanitaire. Les méthodes appliquées doivent provoquer une perte de conscience rapide et totale suivie de la mort.
- Si des poissons sains sont euthanasiés pour des raisons d'échantillonnage, il est recommandé de garder les poissons à jeun de 18 à 72 heures avant l'euthanasie pour prévenir la contamination des prélèvements de branchies et de peau par les selles ou les vomissements. Il est important de consulter avec le chercheur principal afin de déterminer si les protocoles expérimentaux doivent inclure une diète.
- Les poissons ne doivent pas être gardés à jeun s'ils sont en situation de détresse ou s'ils sont euthanasiés pour leur bien-être.
- Une surdose d'anesthésique provoque une progression rapide à travers les stades de l'anesthésie (revoir la description des différents stades au tableau 1).



<b>Tableau 1. Stades de l'anesthésie (Bowser, 1991)</b>		
<b>Stade</b>	<b>Description</b>	<b>Réponse comportementale du poisson</b>
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 bulbaire (stade d'asphyxie)	Interruption des mouvements operculaires souvent suivie rapidement d'un arrêt cardiaque

- D'après les recommandations du CCPA, la méthode d'euthanasie privilégiée comporte deux étapes : induction de l'anesthésie jusqu'à la perte de l'équilibre, puis application d'une méthode physique ou chimique pour provoquer la mort cérébrale et l'arrêt cardio-respiratoire (v. *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'euthanasie).
- Méthodes acceptables d'euthanasie :
  - Anesthésie puis décérébration, dislocation cervicale, décapitation ou exsanguination.
  - Surdose d'anesthésique.
  - Abattage d'un coup violent sur la tête suivi d'autres méthodes physiques comme mentionnée ci-dessus. Seules les personnes compétentes doivent utiliser cette méthode. Il est préférable d'anesthésier les poissons avant d'asséner le coup.
- Les méthodes d'euthanasie suivantes sont jugées inacceptables car chez de nombreuses espèces de poissons, l'activité cérébrale continue malgré une hypoxie prolongée systémique et du système nerveux central.



- Hypothermie : la formation de cristaux de glace pendant la congélation peut être source de souffrance et de douleur.
  - Dioxyde de carbone
  - Asphyxie en sortant les poissons de l'eau ou en vidant le bassin.
- 
- L'électrocution est également inacceptable car elle peut entraîner des fractures vertébrales et des traumatismes musculaires.

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