ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE, AGROALIMENTAIRE ET DE L'ALIMENTATION
SANTÉ ET ALIMENTATION AU CŒUR DE LA VIE

AFSTAL 2023 — 47e Colloque Afstal — Du 7 au 9 juin 2023 - BORDEAUX

NP3 Nutrition PhysioPathologie Pharmacologie

Formation réglementaire « Initiation à la chirurgie expérimentale chez les Rongeurs et Lagomorphes utilisés à des fins scientifiques » Contribution à la règle des 3Rs

DESFONTIS Jean-Claude[1], DESTRUMELLE Sandrine[1], PICARD Catherine[2], BRIAND Lamia[3], GUINTARD Claude[2], BETTI Eric[2], BENCHARIF Djemil[3], MALLEM Yassine[1]
[1]Oniris, NP3, 44300 Nantes, France ;
[2]Oniris, Unité d'Anatomie Comparée, 44300 Nantes, France ;
[3]Oniris, Unité de Biotechnologie et Pathologie de la Reproduction, 44300 Nantes, France

Contexte

- La chirurgie expérimentale sur rongeurs et lagomorphes fait partie intégrante de nombreuses études dans des domaines disciplinaires très variés
- Elle est souvent pratiquée par des chercheurs n'ayant peu ou pas de formation formelle aux principes de base de la chirurgie
- Contrairement aux objectifs de la chirurgie conventionnelle (médicale ou vétérinaire), la chirurgie pratiquée à des fins expérimentales sur rongeurs et lagomorphes vise à produire un modèle ou créer des conditions expérimentales qui doivent répondre à des critères règlementaire, scientifique et éthique

Objectifs

A Oniris une formation spécifique à la chirurgie des rongeurs/lagomorphes est mise en place depuis 1995 avec un triple objectif :

- **Répondre à la réglementation exigeant une formation spécifique pour tous les personnels (concepteur ou applicateur) réalisant des actes chirurgicaux sur des animaux de laboratoire vivants**
- **Former aux principes de base de la chirurgie expérimentale et des bonnes pratiques d'asepsie et d'antisepsie**
- **Améliorer les pratiques aidant à l'application de la règle des 3Rs lors d'interventions chirurgicales sur des rongeurs ou des lapins.**

Organisation

Formation approuvée par le MASA (n° R-44ENVN-chir1-11 - 29/11/2021) avec un programme validé par la Commission Nationale d'Expérimentation Animale (CNEA)

- Enseignements théoriques (18 h), pratiques (8 h TD) sans animaux et 4 séances pratiques avec animaux (18 h) - une séance d'anatomie suivie de 2 séances de chirurgie sur rats.
- La formation est assurée par une équipe pluridisciplinaire (Anatomistes, Chirurgiens, Anesthésistes, Pharmacologues)
- Elle devra être suivie d'un tutorat formalisé pour des chirurgies spécifiques lors du retour dans les structures des stagiaires.
- Espace *e-learning* dédié (avec documentation) accessible aux stagiaires pendant et après leur formation

Une pédagogie centrée sur le stagiaire et le bien-être animal

- Sessions de 12 à 14 stagiaires avec un encadrant pour 2 stagiaires :
  - Favorise l'acquisition des bonnes pratiques
  - Sécurise l'animal pendant tout le temps de la procédure opératoire
- Un support stagiaire fourni, permettant le suivi pas à pas des actions et actes à effectuer
- **Sensibilisation à l'asepsie** : préparation du chirurgien et de la zone chirurgicale afin de sensibiliser et former les stagiaires aux règles d'asepsie pour l'opérateur (nettoyage des mains, port d'une casaque et de gants stériles) et l'animal par la désinfection de la zone chirurgicale.

- **Evaluation des stagiaires**
  - Assiduité aux enseignements
  - Evaluation des connaissances (tests QCM)
  - Evaluation des compétences (examen pratique – ovariectomie sur rate)
- **Evaluation de la qualité de la formation**

Contribution à la règle des 3Rs

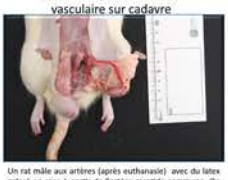
Remplacement

Apprentissage vidéo NC3R

Différents tests

Techniques d'asepsie

Apprentissage de l'anatomie vasculaire sur cadavre



Un rat mâle aux artères (après euthanasie) avec du latex coloré en rose à partir de l'artère carotide commune. On voit l'artère testiculaire pelotonnée au sein du plexus pampiniforme, ainsi que l'artère du pénis qui apparaît en rose. L'incision de la peau à la face médiale de la cuisse a été effectuée afin de vérifier la qualité de l'injection lors de sa réalisation, en examinant l'injection de l'artère saphène, qui est l'une des rares artères superficielles assez grandes du corps de rat

Entrainement sur du matériel inerte

L'utilisation de méthode alternative précède la mise en œuvre des techniques sur animaux vivants. Par exemple la réalisation des sutures avec des tampons de sutures MEDICALEM permet aux stagiaires de s'entrainer à faire des nœuds de chirurgien et différents points avant de le faire sur l'animal.

Réduction

	Espèce animale	Type de procédure : légère à modérée	Nombre d'animaux
Avant 2013	Rats Lapins	Cathétérismes Intubation endotrachéale Néphrectomie Gastrotomie Ovario-hystérectomie	44 (26 rats 18 lapins)
Entre 2013 et 2020	Rats Lapins	Cathétérismes Intubation endotrachéale Intubation supraglottique Néphrectomie Ovario-hystérectomie	38 (26 rats 12 lapins)
Après 2020	Rats	Castration suivie de cathétérismes Intubation endotrachéale Ovario-hystérectomie	36 rats (*dont une partie ré-utilisée à partir d'autres formations*)

Un effort important de réduction est opéré depuis l'entrée en vigueur de la Directive Européenne 2010/63/UE en France en 2013

- Moins de procédures, une seule espèce utilisée depuis 2020 (rat)
- Un nombre d'animaux réduits (une partie des animaux consiste en rats 'ré-utilisés', provenant de formations réglementaires à l'expérimentation animale réalisées sur le site tous les ans (procédures légères)).
- Les procédures chirurgicales sont bien maîtrisées par les expérimentateurs impliqués, ce qui évite les étapes de mise au point coûteuses en animaux.

Raffinement

Phase préopératoire

Prémédication pré-chirurgicale avec un AINS dans l'eau de boisson 30 h avant le début de la chirurgie en remplacement d'un morphinique → limite le risque de dépression respiratoire et augmente le taux de réveil des rats.

L'anesthésie des rats avec un mélange kétamine/médétomidine était réalisée par voie intra musculaire. Afin de limiter le stress des manipulateurs peu aguerris à la manipulation des rats, leur stress, et sécuriser l'injection sur l'animal vigile, elle est désormais réalisée par voie **sous-cutanée**. → Cette voie d'administration est moins stressante tant pour l'animal que pour le manipulateur et moins invasive, avec moindre risque d'injection intra vasculaire.

Apport hydroélectrolytique (20 ml/kg de RL), protection et humidification oculaire (Ocry-gel). Soutien et monitoring thermique des animaux sur une plaque chauffante thermorégulée (Minerve) dès la perte **du réflexe de redressement** de l'animal pour la préparation en préopératoire et pendant toute la durée de la chirurgie.

Lapin en décubitus dorsal, appareillé avec un **dispositif supraglottique** pour améliorer sa ventilation. La condoire fenoée de la langue est le signe d'une compression par le dispositif. Un déplacement de la langue de l'autre côté des incisives et un ajustement du dispositif éliminent le problème.

Phase peropératoire

Principale procédure chirurgicale réalisée : **ovariectomie**
Degré de sévérité : **modérée**
Anesthésie : **injectable (kétamine + médétomidine)**
Analgésie : **multimodale (méloxicam, lidocaïne, médétomidine)**

→ objectif : zéro douleur ou souffrance aux animaux

Un protocole anesthésique approprié combiné à un triple monitoring thermique, analgésique et respiratoire contribuent à la qualité et la sécurité de la procédure ainsi qu'à la qualité du réveil de l'animal.

En résumé

Formation en constante évolution
Une seule espèce utilisée
Un nombre de procédures réduit
Un nombre d'animaux optimisé

Des procédures chirurgicales davantage raffinées
Encadrées par un personnel formé et qualifié
Précédées d'un apprentissage alternatif

Objectif sur 10 ans : réduction de 25 à 50% d'animaux utilisés

Sensibilisation accrue aux bonnes pratiques
Techniques de raffinement
Principes stricts de la chirurgie aseptique
Gage de BEA et fiabilité des résultats scientifiques

36 stagiaires/an ont été formés lors des 10 dernières années
Concepteurs et Applicateurs
Un bon niveau de satisfaction notamment à la partie pratique

Références

1. Gantenbein F, Buchholz T, Wever KE, Ritskes Hoitinga M, Zeiter S, Seebeck P. (2022) Protocol for a systematic review of good surgical practice guidelines for experimental rodent surgery. BMJ Open Sci. 2022 Sep 5;6(1):e100280. doi: 10.1136/bmjos-2022-100280.
2. Bernal J, Baldwin M, Gleason T, Kuhlman S, Moore G, Talcott M. (2009). Guidelines for rodent survival surgery. J Invest Surg. 2009 Nov-Dec;22(6):445-51. doi: 10.3109/08941930903396412.
3. ACLAM Position Statement on Rodent Surgery (2016). J Am Assoc Lab Anim Sci. 2016 Nov;55(6):822-823

Remerciements

Nous tenons à remercier nos confrères, Dr Eric Aguado et Dr Eric Goyenvalle, ainsi que leur équipe pour avoir participé au montage de cette formation dès le départ et œuvré de nombreuses années dans ces formations.