

STAL

Volume XXXI

3^e/4^e trimestres 2006 - N° 3/4

**Sciences et
Techniques de
l'Animal de
Laboratoire**

Sciences et Techniques de
l'Animal de
Laboratoire

A.F.S.T.A.L. Association Française des Sciences et
Techniques de l'Animal de Laboratoire

Revue publiée par :



SAFE, la solution pour le développement sécurisé de vos expérimentations animales.

Depuis plus de 40 ans, SAFE est un fournisseur majeur du monde de la recherche.

Que ce soit au sujet de l'alimentation, des produits d'hygiène ou des litières, nos innovations sont le fruit de l'écoute que nous portons à vos préoccupations.

Notre volonté est de vous apporter des solutions optimales avec une démarche scientifique.

L'appui du centre de recherche du groupe Evalis permet à SAFE de valider ses orientations mais aussi de bâtir avec vous des études spécifiques.

Notre site industriel d'Augy est unique en Europe. Entièrement dédié à l'activité des animaux de laboratoires, il vous apporte le maximum de garanties en terme de sécurité et de constance des produits.

Notre équipe s'attache tous les jours à vous donner le meilleur service. Elle vous recevra avec plaisir.

SAFE, au cœur du processus de recherche



SAFE

Scientific Animal Food & Engineering

**Route de Saint Bris
89290 AUGY / FRANCE**

Tél. : + 33 (0)3 86 53 76 90

Fax : + 33 (0)3 86 53 35 96

EMAIL : ngodard@safe.evls.net

Verbindungsbüro Deutschland
Lebacher Str. 4
66113 SAARBRUCKEN

TEL. : 0681 99 63 646

FAX : 0681 99 63 111

EMAIL : m.muller@e-netmail.com



Pour tout ce qui concerne :

LA RÉDACTION DE LA REVUE

S'adresser au Rédacteur en Chef :

M. A. DORIER

I.U.T.A. - LYON 1

Centre de Bioexpérimentation VALBEX

43, bd du 11-Novembre-1918

69622 Villeurbanne Cedex

Tél./Fax 04 72 69 20 41

E-mail : dorier@iuta.univ-lyon1.fr

RUBRIQUE DES INFORMATIONS

S'adresser à M. A. PERROT

Grange-Chapelle,

69210 Savigny

LES ABONNEMENTS

ET CHANGEMENT D'ADRESSE

S'adresser à A.F.S.T.A.L.

28, rue Saint-Dominique

75007 Paris

Tél./Fax : 01 45 56 91 16

E-mail : afstal@free.fr

France : 77 € - Etranger : 92 €

Le numéro : 30 €

LA PUBLICITÉ DE LA REVUE

S'adresser à M. Pierre BOUGNEUX

Institut de Recherches SERVIER

11, rue des Moulineaux

92150 Suresnes

Tél. : 01 55 72 25 06

Fax : 01 55 72 24 30

SERVICE DE LA REVUE

Direction de publication

S'adresser à J.P. CHAMPIER

B.P. 0109

69592 L'Arbresle Cedex

Tél. 04 74 01 65 28

Fax 04 74 01 69 97

E-mail : jp.champier@fr.crl.com

Les textes publicitaires insérés
dans la revue n'engagent
que la responsabilité des annonceurs

IMPRIMERIE REY

6, rue du Périgord

69330 MEYZIEU

Tél. 04 37 44 3000

sommaire

Modèle murin d'hémorragie intracérébrale induite par l'injection sous-corticale de collagénase P. Vachon (Montréal, Canada)	181
4 ^e Symposium ComTech Hôpital Européen Georges Pompidou - Paris - 15 janvier 2006	189
Prélèvement de lait chez la ratte en toxicologie réglementaire B. Durand (Saint Germain sur l'Arbresle, France)	197
Groupe Francophone de Réflexion sur la Télémétrie 4 ^e COLLOQUE (Nîmes - 2&3 février 2006)	201
Enregistrements télémétriques de longue durée et méthodes de traitement du signal adaptées : application à l'enregistrement de l'activité contractile de l'utérus J. Terrien (Compiègne, France)	219
Pression artérielle chez la souris avec un nouveau transmetteur miniaturisé J. L. Lavoie (Montréal, Canada)	227
Méthode de prélèvement de sang chez le cobaye vigile lors d'études pharmacocinétiques SC Marshall (Loughborough, Grande-Bretagne)	231
INFORMATIONS	235

Sommaire répertorié dans « Current Contents », « Biological Abstracts »,
« Veterinary Bulletin », « Index Veterinarius » et « Revue analytique de
l'Académie des Sciences de Russie ».

Recommandations aux auteurs

- 1) Les manuscrits devront être écrits en français ou en anglais.
- 2) Les manuscrits seront dactylographiés, en double interligne, recto seulement, avec une marge de 50 mm. Toutes les pages seront numérotées.

3) Organisations du manuscrit

a) La première page comportera le titre de l'article en français, le prénom suivi du nom de(s) l'Auteur(s), le nom et l'adresse complète du Laboratoire ou de l'Etablissement où a été effectué le travail et le cas échéant, si elle est différente, l'adresse où devra être envoyée toute correspondance, la liste des abréviations employées et leur signification, et si nécessaire, la dénomination, la date et le lieu de la réunion scientifique où a été présentée la communication.

b) La seconde page comportera un bref résumé (10 à 15 lignes) en français, suivi de 3 à 5 mots-clés.

c) La troisième page comportera le titre de l'article en anglais, le prénom suivi du nom de(s) l'Auteur(s), un bref résumé (10 à 15 lignes) en anglais suivi de 3 à 5 mots-clés en anglais.

A l'exception des revues générales, le manuscrit devra contenir les sections suivantes :

d) Introduction : elle devra poser le problème de façon claire et concise.

e) Matériels et méthodes : cette section comprendra successivement l'identification des animaux de laboratoire en respectant les règles internationales (race, souche, etc.) et en utilisant pour les espèces les moins courantes, le nom français suivi de la dénomination zoologique Linnéenne (ex : le poisson combattant "Betta splendens"), l'appareillage lorsqu'il est particulier, le protocole, les méthodes particulières de dosage, les méthodes statistiques et les produits utilisés (en utilisant le nom générique, et si le produit est dans le commerce, le nom du fabricant ou du fournisseur, la ville et le pays). La forme du produit, base ou sel devra être précisée.

f) Résultats : l'utilisation des figures et des tableaux est encouragée, en évitant les redondances. L'utilisation des tests statistiques devra permettre l'évaluation et l'interprétation des résultats.

g) Discussion : Elle devra s'appuyer essentiellement sur les résultats présentés et faire référence aux résultats de même nature déjà publiés.

h) Conclusion

i) Bibliographie

4) Tableaux et figures

a) Chaque tableau sera présenté sur une page séparée. Au dos sur une étiquette, devront être mentionnés le nom de l'Auteur et le numéro du tableau (en chiffres romains). Dans le tableau, les renvois seront référencés par les lettres a, b, c, etc. et leur signification devra apparaître sous le tableau. Chaque tableau sera accompagné, sur une page séparée, d'une légende qui explicitera brièvement son contenu et les abréviations utilisées. La légende apparaîtra lors de la publication en haut du tableau.

b) Chaque figure devra être présentée sous forme de photographie tirée sur papier blanc brillant ; au dos de chaque figure, sur une étiquette, devront être mentionnés, le nom de l'Auteur, le numéro (en chiffres arabes) et le haut de la figure. La clarté du dessin et l'épaisseur des traits et des lettres devront être suffisamment marquées pour permettre une réduction au 1/3. La légende de la figure apparaîtra sur une page séparée et explicitera brièvement le contenu de la figure, et si nécessaire, l'essentiel des résultats et les abréviations utilisées.

Dans le cas d'un trop grand nombre de tableaux et de figures ou de la reproduction de photographies en couleur, la Rédaction se réserve le droit de facturer les frais supplémentaires aux Auteurs.

5) Références

a) Dans le texte, les références à des travaux publiés devront être citées suivant le système d'Harvard (noms et date). S'il y a plus de 2 Auteurs dans une même référence, la citation dans le texte devra comprendre le nom du premier Auteur suivi par "et al.". Les références citées simultanément devront être classées chronologiquement.

Exemple : (Langer 1981 ; Chamove et Anderson 1989 ; Gérard et al. 1990).

Les citations se référant à des communications personnelles ou à des observations non publiées devront être strictement limitées et apparaître dans le texte entre parenthèses, mais non dans la liste des références.

b) La Bibliographie sera présentée sur une (des) feuille(s) séparée(s). Les références seront classées par ordre alphabétique des Auteurs et pour chaque Auteur par ordre chronologique. Tous les Auteurs d'une même référence devront être mentionnés. Plusieurs références d'un même Auteur, apparaissant une même année, devront être différenciées en ajoutant un suffixe (a, b, c, etc.) à l'année.

Chaque référence devra comprendre la séquence suivante : le nom de(s) l'Auteur(s), l'initiale de leur prénom, l'année de publication entre parenthèses, le titre complet de l'article, le titre du journal dans lequel l'article est paru (abrégé selon les normes), le volume de la revue et la pagination de l'article (première et dernière page).

Exemple : Zerial A, Lemaître M (1990) Recherche de médicaments anti-SIDA et évaluation de leur efficacité dans des modèles animaux. *Sci Tech Anim Lab* 15, 115-122

Les références aux articles parus dans les livres devront comprendre la séquence suivante : le nom de(s) l'Auteur(s), l'initiale de son prénom, l'année de publication entre parenthèses, le titre complet de l'article, In : suivi du titre complet du livre, le nom et l'initiale du prénom de(s) l'Auteur(s) du livre entre parenthèses, l'éditeur, la ville et la pagination de l'article (première et dernière page).

Exemple : Chamove A, Anderson J (1989) Examining environmental enrichment. In : *Housing, care and psychological wellbeing of captive and laboratory primates* (Segal E, ed), Noyes publications, Park Ridge, 183-202

Un article ne pourra être cité "sous presse" que s'il a été accepté pour publication et si le nom du journal est donné.

6) Remise des manuscrits

Les manuscrits, accompagnés de leur disquette, devront être envoyés en triple exemplaire (l'original plus 2 copies) au Secrétaire de Rédaction (M. A. DORIER, I.U.T. A-LYON 1, Centre de Bioexpérimentation VALBEX, 43, bd du 11-Novembre-1918, 69622 Villeurbanne Cedex. Tél./Fax 04 72 69 20 41).

Les logiciels compatibles chez l'imprimeur sont : QuarkXpress (texte), Word 6 (texte, format PC ou Mac), Illustrator 6 (images), Photoshop (dessins). Si autre logiciel, convertir les textes en Word 6.

L'exemplaire original au minimum devra être accompagné des photographies des figures et de l'original des tableaux. L'auteur principal devra mentionner son numéro de téléphone et son adresse. Les Auteurs s'engagent à ne pas proposer leur manuscrit à une autre revue avant d'avoir reçu la décision du Comité de Rédaction. Le Comité de Rédaction soumettra le manuscrit à l'approbation du Comité de Lecture.

7) Corrections des épreuves

Les Auteurs devront retourner les épreuves corrigées dans un délai de 5 jours au Secrétaire de Rédaction (M. A. DORIER, I.U.T. A-LYON 1, Centre de Bioexpérimentation VALBEX, 43, bd du 11-Novembre-1918, 69622 Villeurbanne Cedex).

Les additions et les corrections autres que celles des erreurs typographiques imputables à l'imprimeur seront facturées aux Auteurs.

8) Tirés à part

Les Auteurs recevront 25 tirés à part gratuits. Ils pourront obtenir des exemplaires supplémentaires (voir tarifs ci-dessous), en joignant un bon de commande aux épreuves corrigées.

TARIF (HORS TAXES) DES TIRÉS A PART en € à partir du n° 1/2002	Nombre d'exemplaires	Exemplaires sans couverture				Supplément pour couverture (papier couché)
		4 à 8 pages	12 pages	16 pages	20 pages	
Il est rappelé aux auteurs des communications paraissant dans "Sciences et Techniques de l'Animal de Laboratoire" qu'il leur est offert gratuitement vingt-cinq tirés à part sans couverture. Pour ceux qui désirent un nombre de tirés à part supérieur à ces vingt-cinq exemplaires, ils leur seront facturés aux conditions indiquées dans le tableau ci-contre :	100	60	80	95	105	120
	200	110	140	160	180	140
	300	160	200	225	250	155
	400	210	260	290	320	170
	500	260	320	355	390	185
	(au-dessus nous consulter)					

Solutions pour les unités de recherche animale.

GETINGE

Les entreprises du groupe GETINGE réunissent leurs compétences pour apporter des solutions complètes en hygiène et protection des utilisateurs, des animaux et de l'environnement.



GETINGE

www.getinge.fr

- **Série GEB**

Stérilisateurs à la vapeur pour cages, biberons, aliments et litières, en animalerie conventionnelle ou pour des applications A-2, A-3.

- **Série 91**

Cabines de lavage et désinfection pour cages et portoirs.



www.lancer.fr

- **Gamme Anima**

Laveurs-désinfecteurs pour cages et biberons.

- **Gamme UP et LX**

Laveurs-désinfecteurs pour lavage par injection directe des biberons, verrerie de laboratoire, instruments, ...



GETINGE

La Calhène

www.lacalhene.fr

- **Série ISOLAB**

Isolateurs pour l'élevage et l'expérimentation.
Stérilisateurs MAN pour la décontamination des isolateurs à l'acide péricétique.

- **Conteneur DPTE**

En inox, lavables et autoclavables, pour le transfert de cages, litières, déchets et autres matériaux en animalerie.



Nos partenaires :



Votre demande est spécifique, notre savoir-faire est à votre service !



☞ Hébergement des animaux : du rongeur au primate

☞ Lavage en animalerie : lave-biberons, lave-cages, tunnel



☞ Distribution d'aliments et de litières

☞ Equipements de travail : chariots, tables, éviers, hottes, etc.



☞ Anesthésie gazeuse : de l'induction à l'entretien

☞ Désinfection



Vous accompagner toujours plus loin dans vos recherches !

Modèle murin d'hémorragie intracérébrale induite par l'injection sous-corticale de collagénase

Pablo Patricio Lema ⁽¹⁾, Claudine Savard ⁽²⁾, Catherine Ferland ⁽³⁾ et Pascal Vachon ⁽³⁾

⁽¹⁾ Centre de recherche de l'Hôpital Ste-Justine, Laboratoire de Neurobiologie Intégrative du Développement, Montréal, QC, Canada

⁽²⁾ Université de Montréal, Département de Pathologie et Microbiologie, Faculté de Médecine Vétérinaire, St-Hyacinthe, QC, Canada

⁽³⁾ Université de Montréal, Département de Biomédecine Vétérinaire, Faculté de Médecine Vétérinaire, St-Hyacinthe, QC, Canada

Introduction

L'étude des mécanismes et du traitement de l'hémorragie cérébrale, soit d'origine traumatique ou spontanée, représente un grand défi pour les chercheurs. Les conséquences sont très importantes du point de vue social et économique. L'hémorragie cérébrale, associée au dommage traumatique primaire lors d'accidents d'automobile, est la principale cause de mortalité ou d'incapacité sévère de la population de moins de 45 ans des sociétés industrialisées d'Occident. Elle atteint principalement les hommes adultes à la période la plus productive de leur vie (Fearnside et Simpson 1997 ; Graham et Gennarelli 1997 ; Khon et Clifford 2002). Par ailleurs, les accidents vasculaires cérébraux sont une des causes les plus importantes de mortalité. Les maladies cérébrovasculaires, causant souvent une hémorragie cérébrale spontanée, sont la troisième cause de mortalité aux États-Unis, après les maladies cardiaques et le cancer. De plus, elles causent les désordres neurologiques les plus importants en terme de morbidité (Victor et al 2001). L'hémorragie cérébrale est aussi très importante en médecine vétérinaire. L'hémorragie cérébrale associée au dommage traumatique primaire est souvent observée à cause d'accidents d'automobile, de chutes, de coups, de coups de feu ou d'écrasements accidentels (De Lahunta 1983 ; Dewey et al 1992 ; Hopkins 1996 ; Proulx et Dhupa 1998 ; Summers et al 1995). Même si auparavant on les considérait très rares en médecine vétérinaire, les hémorragies associées aux accidents vasculaires cérébraux sont de plus en plus diagnostiquées grâce aux progrès de la neuro-imagerie. Platt et Garosi (2003) ont montré que presque tous les types d'accidents vasculaires cérébraux décrits chez l'homme sont aussi présents chez les animaux. Par contre, certaines conditions causant une hémorragie cérébrale telles que l'hypertension, les embolies vasculaires, la néoplasie, les vasculites et les coagulopathies, ont reçu peu d'attention dans la littérature vétérinaire en relation avec cette condition et la majorité des connaissances proviennent des modèles expérimentaux utilisés en médecine humaine (Finnie et Blumberg 2002). Plusieurs modèles expérimentaux ont été développés pour éclairer les mécanismes fondamentaux et la complexité de la séquence d'événements après un dommage cérébral. Néanmoins, aucun modèle n'est capable de reproduire le spectre complet des dommages cérébraux. Les injections intracérébrales (sang autologue, différentes composantes sanguines, huile minérale), le placement des ballons gonflables, les lésions par le froid, les modèles d'accélération inertielle et d'accélération avec impact sont des exemples des différentes approches (Finnie et Blumberg 2002). Ils ont permis d'élucider certains aspects de la pathogénie et des traitements potentiellement efficaces.

Résumé

Cet article fait une description du modèle d'hémorragie cérébrale suite à une injection sous-corticale de collagénase chez le rat. Ce modèle a été utilisé dans de nombreuses publications afin d'évaluer des médicaments pour le traitement de cette condition. La méthode chirurgicale est décrite ainsi que l'évolution des lésions histopathologiques. Les avantages et certaines stratégies thérapeutiques de ce modèle sont brièvement présentés. L'article se termine avec une brève considération éthique du modèle.

Mots clés : hémorragie intracérébrale, collagénase, rat.

Summary

This article presents the intracerebral hemorrhage model following a subcortical injection of collagenase in rats. The model has been used on multiple occasions in the past for the evaluation of different therapeutic strategies for the treatment of this condition. The surgical method is described as well as the histopathological changes over time. The advantages and certain therapeutic strategies are also presented. The article finishes with a brief discussion of ethical considerations of this animal model.

Key words: intracerebral hemorrhage, collagenase, rat.

Correspondance : Faculté de Médecine Vétérinaire - Département de Biomédecine Vétérinaire.

A/S Pascal Vachon - C.P. 5000, St-Hyacinthe, QC Canada J2S 7C6

Téléphone : (450) 773-8521 poste 8294 - Télécopie : (450) 778-8109

Courriel : pascal.vachon@umontreal.ca

Rosenberg et ses collègues ont développé un modèle d'hémorragie cérébrale par injection de collagénase chez le rat (Rosenberg et al 1990). Ils ont produit un dommage similaire aux lésions cérébrales focales primaires ayant un dommage vasculaire et la formation d'un hématome semblable à la pathologie humaine. Ce modèle compte plusieurs avantages et il peut être utilisé pour l'étude de trois processus liés à l'hémorragie intracérébrale : l'œdème, l'inflammation et la pénombre ischémique. Plusieurs articles ont été publiés depuis le premier article sur le modèle d'hémorragie cérébrale par injection de collagénase chez le rat par Rosenberg (et al 1990) permettant de démontrer l'efficacité de nouveaux traitements.

Description du modèle

Le modèle créé par Rosenberg et ses collègues (1990) utilise la collagénase pour déclencher une hémorragie dans le parenchyme cérébral. Un exemple de l'étendue de la lésion 48 heures suite à l'injection de collagénase est présenté à la **Figure 1**. Cette enzyme est capable de dégrader le collagène et donc augmente la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique (Robert et Godeau 1974; Rosenberg et al 1993) en brisant la matrice extracellulaire et la membrane basale autour des vaisseaux capillaires (Kefalides 1971 & 1973 ; Timpl et Dziadek 1986 ; Vracko 1974). La collagénase est aussi un des médiateurs impliqués dans la réponse de l'organisme au dommage cellulaire et elle est libérée par des neutrophiles dans les sites d'inflammation. La collagénase joue alors un rôle important dans l'étiopathogénèse du dommage tissulaire inflammatoire aigu (Flower 1989 ; Harris et Krane 1974 ; Weiss 1989). Tout cela suggère que le mécanisme de production de la lésion est similaire en certains aspects à la lésion spontanée ou induite.

À l'aide d'un appareil stéréotaxique (**Figure 2**), la collagénase est injectée à l'aide d'une seringue Hamilton dans les noyaux gris de la base du cerveau, précisément le noyau caudoputamen. Les procédures chirurgicales se font sous anesthésie générale. Après avoir placé la tête du rat dans l'appareil stéréotaxique, une incision de la peau est faite sur le dessus du crâne et le périoste est dégagé afin de bien voir bregma. A l'aide d'une fraiseuse (fraise de 1,5 mm) un trou est fait à 0,0 mm dans le plan antéro-postérieur et à 3 mm latéralement. Puis, la pointe de l'aiguille est descendue dans le cerveau à 5 mm de profondeur dans le plan dorso-ventral à partir de la dure-mère. Une fois l'aiguille en place, 2 µl d'une solution de collagénase (0,5 unité) sont injectés sur une période de 10 minutes. Il est important de laisser

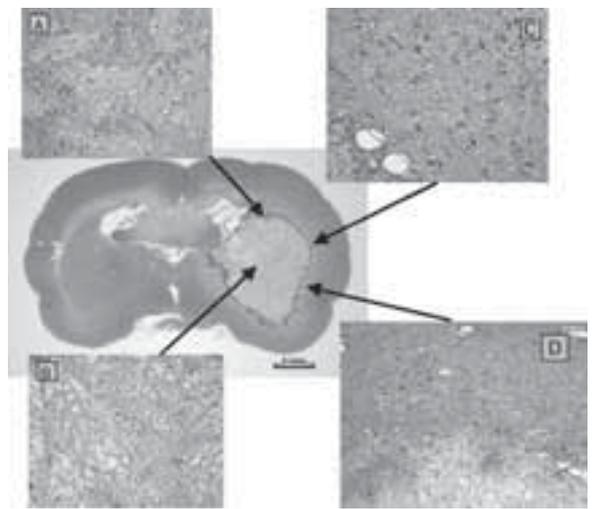


Figure 1 : Coupe frontale d'un cerveau de rat montrant la zone (limite : ligne continue) de l'hémorragie intracérébrale dans les noyaux gris de la base induite par l'injection stéréotaxique de collagénase. Coupe de cerveau (5 µm) 48 heures après l'injection de collagénase (0,5 unité/2 µl collagénase type VII).

- A. Présence de quelques neutrophiles et de parenchyme nécrotique au centre de la zone hémorragique.
- B. Présence de neutrophiles plus nombreux à la périphérie de la zone hémorragique.
- C. Astrocytes réactifs (hypertrophie) marqués à la GFAP (Glial Fibrillary Acidic Protein) se retrouvant à la bordure de l'hémorragie (pénombre).
- D. Présence de neurones nécrotiques (noyaux pycnotiques) en bordure de la zone centrale de l'hémorragie (pénombre). Des globules rouges se retrouvent également en amas dans cette zone.

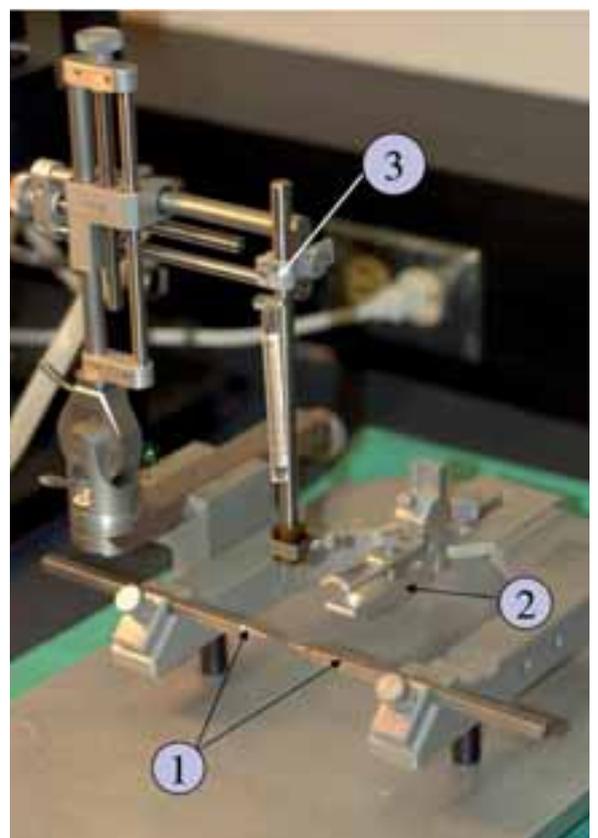


Figure 2 : Appareil stéréotaxique et aiguille Hamilton (5 µl) sur le porte aiguille. Barres auriculaires (1), support de fixation du museau (2) et transporteur (porte aiguille) (3).

l'aiguille en place de 3-5 minutes suite à l'injection afin de permettre à la collagénase de bien diffuser dans le cerveau et ainsi empêcher un reflux.

Dix minutes après l'injection, on peut voir à l'histologie du sang extravasé autour des vaisseaux sanguins les plus fins (Del Bigio et al 1996). Quatre heures après le déclenchement de l'hémorragie, l'hématome est grossièrement rond avec des extensions dans la matière blanche dorsalement au striatum. Bien que l'hématome soit à ce moment étendu, on n'observe pas de nécrose du parenchyme adjacent. Les érythrocytes sont abondants dans le tissu et parmi les cellules cérébrales intactes (Del Bigio et al 1996 ; Rosenberg et al 1993). Après 24 heures, la lésion a deux zones différentes. La zone centrale est la plus grande, avec de nombreuses petites aires composées d'érythrocytes pauvrement colorés, entourés de fragments de parenchyme nécrosé. Les aires de parenchyme nécrosé et celles contenant des érythrocytes sont séparées par une fine couche de fibrine extravasée. La zone périphérique de la lésion est une bande étroite, pauvrement colorée, qui contient des cellules de la glie et des neurones normaux ou nécrosés (Del Bigio et al 1996). Dans cette zone périphérique on retrouve des foyers d'hémorragie composés de globules rouges intacts et de neutrophiles. La structure des vaisseaux sanguins montre de la variabilité, quelques-uns sont intacts tandis que d'autres présentent de la nécrose et de la thrombose (Rosenberg et al 1993). Les astrocytes présentent une hypertrophie observable à partir du 2^{ème} jour (Lema et al 2004) jusqu'au 14^{ème} jour (Montgomery 1994) post-hémorragique, qu'il est possible de détecter en utilisant des techniques immunohistochimiques. Quarante-huit heures après l'induction de l'hémorragie, la résonance magnétique et l'histopathologie montrent que l'hématome a l'apparence d'une cible. La **figure 1** montre un exemple des lésions typiques à 48 heures. Dans la zone centrale, les globules rouges sont plus détériorés et les débris du tissu nécrosé sont entourés par des neutrophiles, quelques leucocytes mononucléaires et de rares ensembles d'érythrocytes intacts. Dans la zone périphérique, l'infiltration des leucocytes polymorphonucléaires est intense et elle est significativement moindre lors de traitement avec des anti-inflammatoires stéroïdiens (Lema et al 2004 et 2005). On peut voir aussi des érythrocytes intacts et des vaisseaux sanguins dont l'endothélium est hypertrophié et des cellules inflammatoires dans l'espace périvasculaire (Del Bigio et al 1996 ; Rosenberg et al 1993). Les images de résonance magnétique montrent que l'œdème est confiné surtout à la matière blanche (Del Bigio et al 1996). Après 3 mois, cette région devient une

cavité kystique. Près des parois de cette cavité, les neutrophiles et les astrocytes réactifs sont présents en grand nombre. Le ventricule ipsilatéral à la lésion est remarquablement agrandi (Chesney et al 1995). Toutes ces données suggèrent que la lésion produite a des conséquences à long terme, voire permanentes.

Les avantages du modèle

Comme il a été discuté, l'utilisation de la collagénase pour induire une hémorragie intracérébrale reproduit l'hémorragie pathologique. Il est également préférable que la reproduction de la lésion naturelle soit la plus fidèle possible. Un deuxième avantage est la relative simplicité technique ainsi que des coûts abordables concernant l'équipement requis. Ces deux caractéristiques permettent l'utilisation de ce modèle dans une variété de milieux allant de l'industrie pharmaceutique à la recherche universitaire.

Plusieurs chercheurs ont essayé de standardiser la façon de produire une lésion traumatique, de manière à obtenir une localisation et une taille reproductibles. Par contre, l'hématome obtenu avec les autres modèles a démontré une grande variabilité de localisation et de dimension (Finnie et Blumberg 2002). D'autre part, l'évolution histopathologique de la lésion avec le modèle de collagénase a été bien décrite (Chesney et al 1995 ; Del Bigio et al 1996 ; Rosenberg et al 1993). Pour toutes ces raisons, ce modèle peut servir à évaluer les changements caractéristiques selon les différentes stratégies thérapeutiques.

Ce modèle permet de mesurer les déficits fonctionnels sur une période relativement étendue. Pour les études comportementales, les batteries de tests neurologiques montrent des changements significatifs, par rapport à des groupes contrôles, dès le lendemain de la chirurgie (Del Bigio et al 1996 ; Lema et al 2004 et 2005 ; Rosenberg et al 1993). Ces déficits (tendance au tournis ipsilatéral à la lésion, perte controlatérale de la force de préhension, perte de coordination pour marcher sur une barre étroite) lors de l'injection de collagénase se manifestent déjà 4 heures suite à l'injection de collagénase et s'aggravent jusqu'à 48 heures. À 72 heures, les déficits commencent à s'atténuer, mais ils persistent pour une semaine suivant l'injection de collagénase (Rosenberg et al 1993). D'autres signes neurologiques aigus, tels que la présence d'une rétraction déficitaire du membre antérieur après un déplacement forcé (Del Bigio et al 1996), la perte de symétrie des membres antérieurs lorsque le rat est suspendu par la queue et la diminution de l'activité des animaux après l'induction de l'hémorragie ont été notés (Leyden

et al 2000). Chesney et al. (2005) ont évalué pendant 70 jours la tendance au tournis suite à une injection d'apomorphine et la capacité des animaux d'initier un mouvement tel que la marche. Le tournis lors de la marche ainsi que l'initiation du mouvement sont reliés au nombre de récepteurs dopaminergiques présents dans les noyaux gris de la base. Lors d'une lésion unilatérale du cerveau, il y aura donc déséquilibre du contrôle de la motricité volontaire se traduisant le plus souvent par le tournis lors de la marche (Tolwani et al 1999). Chesney et al (2005) ont démontré suite à l'injection d'apomorphine que les déficits produits sont présents à long terme (jusqu'à 90 jours post-collagénase). Ce modèle peut donc servir aussi bien aux études portant sur les phases aiguë, subaiguë et chronique, les conséquences et les traitements de l'hémorragie cérébrale.

La barrière hémato-encéphalique agit comme une barrière au niveau du SNC (Cotran 1999). Les vaisseaux sanguins, pénétrant le système nerveux central, sont recouverts par la pie-mère formant l'espace périvasculaire. La pie-mère disparaît avant que les vaisseaux sanguins ne deviennent des capillaires et ces derniers sont complètement entourés des projections des astrocytes (Cotran 1999). La réaction astrocytaire (hypertrophie) est importante lors de lésions cérébrales (**figure 1**). L'inflammation subséquente à l'hémorragie, qu'elle soit d'origine traumatique ou spontanée, a une grande influence sur le développement du dommage cérébral. Les mécanismes de cette réaction inflammatoire ont été l'objet de nombreuses études (Matsuo et al 1994a,b ; Xue et Del Bigio 2000). Certains auteurs ont affirmé que les érythrocytes et leurs produits de dégradation (l'hémoglobine, l'oxyhémoglobine ou le fer) sont des éléments importants dans le processus inflammatoire et la formation de l'œdème (Sadzadeh et al 1987 ; Xi et al 1998 & 2001). Par contre, d'autres auteurs affirment que les leucocytes sont la principale cause du dommage (Xue et Del Bigio 2000).

L'utilisation du modèle

Le traitement de l'hémorragie intracérébrale ainsi que de l'inflammation et de l'œdème cérébral qui y sont généralement associés, pourrait varier selon plusieurs paramètres tels que l'origine et l'étendue du dommage, le stress et les conditions environnementales, la race, l'espèce et l'âge (Hatton 2001). Des études sont donc nécessaires afin d'évaluer l'importance de chacun de ces paramètres afin d'offrir un meilleur traitement aux animaux. Les diurétiques sont recommandés pour le traitement de l'œdème et l'augmentation de la pression intracrânienne, qui accompagnent une grande variété de pathologies crâniennes (Chrisman 1991 ; Oliver et al 1997), et font partie des premières mesures

thérapeutiques avec l'oxygénothérapie et la fluidothérapie (Dewey 2000 ; Dewey et al 1992). Malgré leurs utilisations fréquentes, l'administration de corticostéroïdes (ex. dexaméthasone et méthylprednisolone) est toujours controversée pour le traitement du trauma crânien. Néanmoins, certains chercheurs ont montré, à l'aide du modèle utilisant la collagénase, que ces corticostéroïdes améliorent la performance des animaux affectés tout en réduisant les dommages tissulaires, l'œdème et l'inflammation (Lema et al 2004, 2005 ; Vachon et Moreau 2003). Ce modèle a également été utilisé aussi dans la recherche de nouvelles approches thérapeutiques pour le traitement de l'hémorragie intracérébrale (Chue et al 2004 ; Kawanishi 2003 ; Maclellan 2004 ; Rodrigues et al 2003 ; Terai et al 2003).

Considération éthique

Ce modèle présente évidemment plusieurs questions d'ordre éthique. Il est tout d'abord nécessaire de noter qu'un modèle d'hémorragie cérébrale est nécessaire pour l'avancement de la connaissance des mécanismes pathologiques et des traitements de cette condition traumatique. Ceci améliorera le pronostic suite au trauma crânien chez les animaux et, nous l'espérons, chez l'homme. Nous avons noté suite aux chirurgies que les animaux étaient dans un état amoindri (moins de mouvements spontanés, dos vouté, poils hérissés). Par contre, aucun médicament analgésique n'est administré en phase post-opératoire puisque ces médicaments possèdent des propriétés anti-inflammatoires pouvant interférer avec l'évaluation des médicaments expérimentaux (Vachon et Moreau 2002). Nous avons donc débuté une étude afin d'évaluer l'impact de la buprénorphine (analgésique de longue durée fréquemment utilisé en médecine des animaux de laboratoire) sur le modèle hémorragique. Ceci pourrait améliorer la condition physique des animaux tout en préservant les déficits moteurs et les lésions cérébrales induites par l'injection de collagénase et permettre l'évaluation des médicaments pour le traitement de l'hémorragie cérébrale.

Il serait intéressant de suivre l'évolution de l'hémorragie à l'aide de l'imagerie cérébrale. Ceci éviterait de sacrifier des animaux à différents temps suite à l'induction de l'hémorragie. Par contre, la résolution de cette technique n'est pas suffisante pour voir les changements histopathologiques et permet principalement d'évaluer le volume de l'hématome ainsi que l'œdème cérébral. De plus, le coût prohibitif des appareils d'imagerie chez les rongeurs limite son utilisation à des groupes de recherche spécialisés du système nerveux central.

Conclusion

Les modèles animaux en recherche biomédicale sont une clé essentielle pour la compréhension des mécanismes sous-jacents aux pathologies et pour leur traitement. Nous espérons que cette revue pourra aider à la

compréhension des mécanismes impliqués dans la production d'une hémorragie intracérébrale et du dommage tissulaire conséquent. Les avantages de l'injection intracérébrale de collagénase montrent qu'elle est un des modèles des plus intéressants pour l'évaluation des traitements ciblés à la réparation tissulaire et à la restauration fonctionnelle.

Références

1. Chesney JA, Kondoh T, Conrad JA, Low WC (1995) Collagenase-induced intrastriatal hemorrhage in rats results in long-term locomotor deficits. *Stroke* 26, 312-316.
2. Chrisman CL (1991) Problems in Small Animal Neurology. Lea & Febiger Éditeurs, Philadelphia, 126-127.
3. Chu K, Jeong SW, Jung KH, Han SY, Lee ST, Kim M, Roh JK (2004) Celcoxib induces functional recovery after intracerebral hemorrhage with reduction of brain edema and perihematomal cell death. *J Cereb. Blood Flow Metab* 8, 926-933
4. Cotran RS (1999) Robbins Pathologic Basis of Disease. Saunders, Philadelphia, 1293-1377.
5. De Lahunta A (1983) Veterinary Neuroanatomy and Clinical Neurology, W.B. Saunders Éditeur, Philadelphia, 130-155.
6. Del Bigio MR, Hui-jin Y, Buist R, Peeling J (1996) Experimental intracerebral hemorrhage in rats, magnetic resonance imaging and histopathological correlates. *Stroke* 27, 2312-2320.
7. Dewey CW (2000) Emergency management of head trauma patient. Principles and practice. Common Neurologic Problems. *Vet Clin North Am* 30, 207-225.
8. Dewey CW, Budsberg SC, Oliver JE (1992) Principles of head trauma management in dogs and cats-part I. *Comp Cont Ed Pract Vet* 14, 199-207.
9. Fearnside MR, Simpson DA (1997) Epidemiology. Dans, Head Injury. Pathophysiology and Management of Severe Closed Injury, Reilly P, Bullock R. Chapman Éditeurs, Hall Medical, London, 3-24.
10. Finnie JW, Blumbergs PC (2002) Traumatic brain injury. *Vet Pathol* 39, 679-689.
11. Flower RJ (1989) The pharmacology of the glucocorticoids. Dans, Steroids in diseases of the central nervous system. Wiley & Sons Éditeurs, Chichester, 17-24.
12. Graham DI, Gennarelli TA (1997) Trauma. Dans, Greenfield's Neuropathology, Graham DI & Lantos PL Éditeurs, London, 197-262.
13. Harris ED, Krane SM (1974) Collagenases. *N Engl J Med* 291, 652-661.
14. Hatton J (2001) Pharmacological treatment of traumatic brain injury. *CNS drugs* 17, 553-581.
15. Hopkins AL (1996) Head trauma. *Vet. Clin. North Am.: Small Anim Pract* 26, 875-891.
16. Kawanishi M (2003) Effect of hypothermia on brain edema formation following intracerebral hemorrhage in rats. *Acta Neurochirurg Suppl* 86, 453-456.
17. Kefalides NA (1971) Isolation of a collagen from basement membranes containing three identical-chains. *Biochem Biophys Commun* 45, 226-234.
18. Kefalides NA (1973) Structure and biosynthesis of basement membranes. *Int Rev Connect Tissue Res* 6, 63-104.
19. Krause JF, McArthur DL., Silverman TA, Jayaraman M (1996) Epidemiology of brain injury. Dans, Neurotrauma. Narayan R.K., Wilberg J.E, Povlishock J.T. Éditeurs, McGraw Hill, New York, 13-30.
20. Lema P., Girard C., Vachon P (2004) Evaluation of dexamethasone for the treatment of intracerebral hemorrhage using a collagenase-induced intracerebral hematoma model in rats. *J Vet Pharmacol Therap* 27, 321-328.
21. Lema P, Girard C, Vachon P (2005) High doses of methylprednisolone are required for the treatment of collagenase-induced intracerebral hemorrhage in rats., 2005, *Can J Vet Res* 69, 253-259.
22. Leyden P, Shin C, Jackson-Friedman C, Hassid S, Chong A (2000) Effect of ganaxolone in a rodent model of cerebral hematoma. *Stroke* 31, 69-175.
23. Maclellan CL, Girgis J, Colbourne FJ (2004) Delayed onset of prolonged hypothermia improves outcome after intracerebral hemorrhage in rats. *Cereb Blood Flow Metab* 4, 432-440.

24. Matsuo Y, Onodera H, Shiga Y, Nakamura M, Ninomiya M, Kihara T, Kogure K (1994a) Correlation between myeloperoxidase-quantified neutrophil accumulation and ischemic brain injury in the rat. Effects of neutrophil depletion. *Stroke* 7, 1469-1475.
25. Matsuo Y, Onodera H, Shiga Y, Shozuhara H, Ninomiya M, Kihara T, Timatani T, Miyasaka M, Kogure K (1994b) Role of cell adhesion molecules in brain injury after transient middle cerebral artery occlusion in the rat. *Brain Res* 656, 344-352.
26. Montgomery DL (1994) Astrocytes, form, functions, and roles in disease. *Vet Pathol* 31, 145-167.
27. Oliver JE, Lorenz MD, Kornegay JN (1997) *Handbook of Veterinary Neurology*. W.B. Saunders Éditeur, Philadelphia, 297-300.
28. Platt SR, Garosi L (2003) Canine cerebrovascular disease, do dogs have strokes? *J Am Anim.Hosp. Assoc* 39, 337-342.
29. Proulx J, Dhupa N (1998) Severe brain injury, Part II. Therapy. *Comp Cont Ed Pract Vet* 20, 897-905.
30. Robert AM, Godeau G (1974) Action of proteolytic and glycolytic enzymes on the permeability of the blood-brain barrier. *Biomedicine* 20, 36-39.
31. Rodrigues CM, Sola S, Nan Z, Castro RE, Ribeiro PS, Low WC, Steer CJ (2003) Tauroursodeoxycholic acid reduces apoptosis and protects against neurological injury after acute hemorrhagic stroke in rats. *Proc Natl Acad Sci USA* 10, 6087-6092.
32. Rosenberg GA, Estrada E, Kelley RO, Kornfeld M (1993) Bacterial collagenase disrupts extracellular matrix and opens blood-brain barrier in rat. *Neurosci Lett* 160, 117-119.
33. Rosenberg GA, Mun-bryce S, Wesley M, Kornfeld M (1990) Collagenase-induced cerebral hemorrhage in rats. *Stroke* 21, 801-807.
34. Sadrzadeh SM, Anderson DK, Panter SS, Hallaway PE, Eaton JW (1987) Hemoglobin potentiates central nervous system damage. *J Clin Invest* 79, 662-664.
35. Summers BA, Cummings JF, de Lahunta A (1995) *Veterinary Neuropathology*, Mosby Éditeur, St-Louis, 15.
36. Terai K, Suzuki M, Sasamata M, Yatsugi S, Yamaguchi T, Miyata K (2003) Effect of AMPA receptor antagonist YM872 on cerebral hematoma size and neurological recovery in the intracerebral hemorrhage rat model. *Eur J Pharmacol* 1, 95-101.
37. Timpl R, Dziadek M (1986) Structure, development, and molecular pathology of basement membranes. *Int Rev Exp Pathol* 29, 1-112.
38. Tolwani RJ, Jakowec MW, Petzinger GM, Green S, Waggle K (1999) Experimental models of Parkinson's disease: insights from many models. *Lab Anim Sci* 49, 363-371.
39. Vachon P, Moreau JP (2002) Butorphanol decreases edema following carrageenan-induced paw inflammation in rats. *Contemp Top Lab Anim Sci* 41, 15-17.
40. Vachon P, Moreau JP (2003) Low doses of dexamethasone decrease brain water content of collagenase-induced cerebral hematoma. *Can J Vet Res* 68, 157-159.
41. Victor M, Adams RD, Ropper AH (2001) *Adams and Victor's principles of neurology*. Victor M. Éditeur., McGraw-Hill, New York, 821-824.
42. Vracko R (1974) Basal lamina scaffold-anatomy and significance for maintenance of orderly tissue structure. *Am J Pathol* 77, 314-346.
43. Weiss SJ (1989) Tissue destruction by neutrophils. *N Engl J Med* 320, 365-376.
44. Xi G, Hua Y, Bhasin RR, Ennis SR, Keep RF, Hoff JT (2001) Mechanisms of edema formation after intracerebral hemorrhage. *Stroke* 32, 2932-2938.
45. Xi G, Wagner KR, Keep RF, Hua Y, Courten-Myers GM, Broderick JP, Brott TG, Hoff J.T (1998) Role of blood clot formation on early edema development after experimental intracerebral hemorrhage. *Stroke* 29, 2580-2585.
46. Xue M, Del Bigio MR (2000) Intracortical hemorrhage injury in rats. Relationship between blood fractions and brain cell death. *Stroke* 31, 1721-1727.



Menu quotidien

*Rongeurs, Carnivores, Porcins, Primates,
Herbivores, Aquatiques, Oiseaux.
Régimes de démarrage,
Maintenance, reproduction*

Emballage standard : 12.5 Kg

Menu à la carte

Aliments spéciaux formulés suivant le régime préconisé.

Base synthétique – poudre

Carencé ou à taux imposé en minéraux, protéines, vitamines,
Acide gras, acides vitamines, niacine..

Base synthétique + Céréales – granulé

Carencé ou à taux imposé en calcium, fer, phosphore, sodium
Potassium, magnésium, cuivre, manganèse, zinc, vitamines,
acides gras, acides aminés.

Base aliments naturels (céréales) – granulé

Déficiência ou saturation en hydrates de carbone,
taux de protéines ou hydrate de carbone modifié.

Aliment standard + additif – granulé

Ajout de minéraux, cholestérol, acides gras,
ou toute molécule existante ou expérimentale.

Prémélange pour inclusion dans l'aliment – poudre

A utiliser dans les aliments préparés par vous-mêmes.
Un prémélange combiné de vitamines et minéraux qui
compense les déficiences des aliments synthétiques.

Emballage variable suivant les besoins :
petits conditionnements, sous vide, irradiation.

On en parle ...

On entend beaucoup parler de contamination croisée, mais de quoi s'agit-il exactement ?

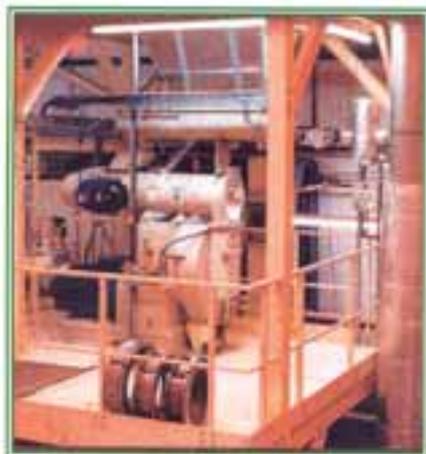
Contamination croisée : « contamination d'une matière première par un autre produit pendant la production, la manipulation ou la distribution ».

Il ne s'agit pas uniquement de la contamination par micro-organismes, mais aussi, tout simplement, par un autre produit qui n'est pas prévu dans la fabrication.

Le meilleur exemple reste celui des farines animales : lorsqu'on produit un aliment contenant des farines animales, puis, à la suite, un aliment n'en contenant pas, on s'expose à « contaminer » le produit végétarien par les traces restant présentes dans toute la machinerie.

Entre chaque production, la machinerie est, bien entendu, « rincée », à l'aide de matières premières neutres (ex. blé) que l'on fait passer dans tout le circuit. Ce procédé suffisait-il ?

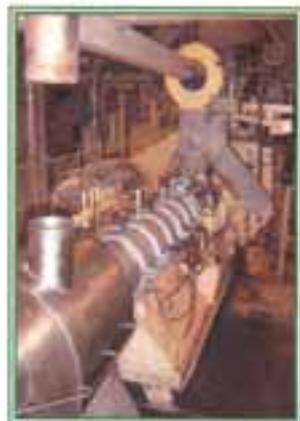
Lorsque le problème de l'ESB est apparu, nous avons testé tous nos produits végétariens : grâce aux méthodes modernes d'investigation, très sophistiquées, nous avons décelé, sous forme de traces, des taux infimes (de l'ordre de 0.01%), mais cependant présents, de farines animales dans les produits végétariens.



**La presse pour les bouchons traditionnels
Aliments Végétariens**

En vertu du principe de précaution, nous avons procédé à des mesures radicales pour éviter toute contamination croisée :

Nous avons deux lignes de production bien distinctes : la presse, qui produit des bouchons traditionnels, et l'extrudeur, qui produit des granulés expansés.



**L'extrudeur pour
les granulés expansés**

Il nous suffisait donc de séparer les deux lignes de production, en dédiant l'une aux aliments végétariens, et l'autre aux aliments pouvant contenir des farines animales.

C'est pourquoi nos aliments en bouchons sont végétariens, et nos aliments expansés peuvent contenir des farines animales.

Après avoir effectué cette modification dans notre ligne de production, nous avons procédé à une nouvelle analyse des aliments végétariens, sous contrôle de la DGCCRF*, qui nous a félicités de notre rapidité de réaction :

les résultats donnaient un taux zéro de contamination.

Nos aliments sont automatiquement emballés dans des sacs cousus ou thermo-soudés, qui ne permettent pas de contamination entre les aliments.

*Direction Générale de la Consommation, de la Concurrence et de la Répression des Fraudes.



Des défis techniques au défi éthique

4^e Symposium ComTech

Hôpital Européen Georges Pompidou
PARIS



25 Janvier 2006



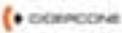
Association Française des Techniques de l'Animal de Laboratoire

Remerciements

Nous remercions vivement
Madame Monique Ricomès,
Directeur de l'HEGP
pour son accueil très chaleureux.
Un grand merci à nos fidèles sponsors qui participent
activement à la réussite de cette journée.

Allentown Caging & Equipement 

Charles River Laboratories 

Cidercone Oy 

Dietex France (SDS) 

Ehret

Elevage Janvier 

Getinge 

Harlan 

Ingénia 

Lancer 

Matachana 

Safe 

Tecniplast 

Message de bienvenue

L'AFSTAL vous souhaite la bienvenue à la Journée annuelle de sa ComTech.

Cette réunion se renouvelle depuis plusieurs années déjà, et symbolise ainsi le dynamisme et la vie intense de cette commission technique. Les thèmes abordés sont toujours d'actualité, pour tenter de répondre aux questions que chacun se pose. Cette manifestation se doit d'être parisienne pour faciliter la venue de tous. Elle s'affiche déjà comme un franc succès par le nombre d'inscrits.

Cette année : "Souris, on te filme. L'observation et le suivi clinique : des incontournables de la bien-traitance".

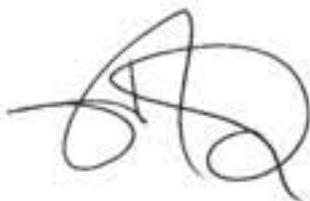
Pourquoi ce thème ? A l'heure actuelle de nombreuses questions se posent sur le bien-être de l'animal. Change-t-il d'un animal à l'autre, d'un âge à l'autre, d'un moment de la journée à l'autre ? Comment savoir ou déterminer ce dont les animaux de laboratoire ont besoin pour être "à l'aise" ? La meilleure piste pour tenter d'apporter une réponse est de les observer très régulièrement aux différents stades de leur vie.

Le comportement éthique tout à fait naturel de l'homme, souvent très expérimenté, qui entoure l'animal quotidiennement en animalerie, le conduit à bien traiter l'animal. Au-delà, l'homme cherche à mettre l'animal à l'aise. "Bien traiter" et "tenter de mettre à l'aise" l'animal débordent très largement le cadre législatif. Tout se passe comme si la législation n'était qu'une simple conséquence de la responsabilité de l'homme et une simple mise en conformité formelle de tout le savoir-faire implicite de l'homme.

La responsabilité de l'homme vis-à-vis de l'animal est donc la clé de voûte de cette journée.

Au nom de l'AFSTAL, Michèle Pauchard, Présidente de la ComTech, et moi-même, nous vous adressons tous nos vœux pour bénéficier pleinement de cette journée de la ComTech :

Apprendre, échanger au cœur de cet hôpital prestigieux !



Michèle Pauchard
Présidente de la ComTech



Annie Reber
Présidente de l'AFSTAL

Informations

Lieu du colloque

Hôpital Européen Georges Pompidou

20, rue Leblanc

75908 Paris Cedex 15

Secrétariat Administratif

Alpha Visa Congrès / ComTech 2006

624, rue des Grèzes - 34070 Montpellier

Tél. : +33 (0)4 67 03 03 00

Fax : +33 (0)4 67 45 57 97

E-mail : comtech2006@alphavisa.com

Programme

8h30 - 9h00 : Accueil des participants

9h00 - 9h30 : Allocution d'ouverture

Monique Ricomes,
Directeur de l'Hôpital Européen
Georges Pompidou

Xavier Jeunemaître,
Département génétique de l'Hôpital Européen
Georges Pompidou

Journée animée par Alain Dorier, Président
d'honneur de l'AFSTAL

9h30 - 10h30 : Généralités

09h30 - 09h55 Pourquoi promouvoir la bien-
traïtance ?

Claude Milhaud - *Académie Vétérinaire de
France, Clamart*

10h00 - 10h25 Des mots pour des maux

Aurélie Girod - *Charles River Laboratories,
L'Arbresle*

10h30 - 11h00 : Pause-café

**11h00 - 12h30 : Observations des animaux au
quotidien**

11h00 - 11h20 Observation clinique des
rongeurs dans les études de toxicologie

Alain Laporte - *Biologie Servier, Gidy*

11h25 - 11h45 Les lagomorphes : combinaison
des effets

Jean-Marc Roussel - *Centre Lago, Vonnas*

11h50 - 12h10 Le chien dans tous ses états

Marie Wyckmans - *CERB, Baugy*

12h15 - 12h25 Observation des primates

Christophe Cahours - *BioPrim, Baziège*

12h30 - 14h30 : Déjeuner buffet

14h30 - 16h40 : Spécificités

14h30 - 14h50 Soins et problèmes posés par le
développement d'une animalerie étudiant le
vieillessement

Claude Sebban / Hélène Cois - *Laboratoire de
biologie du vieillissement, Hôpital Charles Foix,
Ivry sur Seine*

14h55 - 15h15 La bientraitance chez les
rongeurs : cas particulier pour les animaux
obèses

Gérard Laskri-Liegeois - *Pierre Fabre, Castres*

15h20 - 15h40 L'entraînement des primates
pour coopérer dans le suivi clinique et les soins.

Jean-Marie Helies - *Centre de primatologie Fort
Foch, Niederhausbergen*

15h45 - 16h15 : Pause-café

16h15 - 16h35 Le test d'Irwin, un exemple de
méthode de quantification du comportement
chez le rongeur

Violaine Rozand - *MDS Pharma Services, Saint
Germain sur l'Arbresle*

16h40 - 17h00 : La technologie au service de
l'observation

Vigie Primate®, capteur de comportement, de
bien-traitance

Bruno Girier - *View Point, Champagne au Mont
d'Or*

17h00 - 17h30 : Clôture

Pourquoi promouvoir la bien-traitance ?

Claude Milhaud,

Académie vétérinaire de France - Clamart

La notion de bien-être animal se révèle, par son imprécision, inadaptée à une démarche de protection animale formalisée.

Destinée à pallier cette imprécision la traduction de la lettre et de l'esprit du mot "welfare", est à l'origine de la proposition du concept de bien-traitance.

De par sa définition ce concept offre le cadre d'un dialogue pragmatique entre les parties concernées par la protection animale.

Dans le cas des animaux de laboratoire la bien-traitance s'inscrit à l'évidence dans l'approche de l'éthique d'action et de moyens.

Des mots pour des maux

Aurélié Girod,

Charles River Laboratories, L'Arbresle

Présentation illustrée de pathologies fréquentes chez les Rongeurs.

Observation clinique des rongeurs dans les études de toxicologie

Alain Laporte,

Biologie Servier, Gidy

De par leur activité, imposée par le législateur dans le but de garantir la sécurité des futurs médicaments chez l'homme, les toxicologues doivent concilier au quotidien deux aspects qui peuvent apparaître contradictoires : tester in vivo des médicaments à des doses toxiques tout en prenant en compte le bien-être de l'animal.

Un suivi clinique de qualité est un des éléments qui peut nous aider à relever ce défi. Ce suivi passe par une organisation du centre de toxicologie adaptée tant à assurer les préoccupations éthiques qu'à remplir les exigences réglementaires.

Ces deux axes, réglementaires et éthiques, se retrouvent d'abord dans les raisons pour lesquelles ces observations cliniques sont effectuées, ainsi que dans la fréquence de ces observations. Les raisons peuvent se décliner en 3 thèmes principaux : effet produit, sanitaire et éthique mais, dans tous les cas, optimiser la qualité du suivi clinique afin de mieux remplir les objectifs scientifiques tend également à améliorer la bien-traitance de l'animal. C'est un

véritable état d'esprit qui doit être présent chez tous les intervenants du centre de toxicologie.

Ceci n'est possible que grâce à une organisation qui touche les personnes impliquées et les moyens mis à leur disposition.

Concernant les acteurs, notre objectif passe d'abord par une responsabilisation des personnes de terrain (implication de techniciens et d'animaliers responsables par étude) et la formalisation d'un véritable binôme directeur d'étude - technicien d'étude favorisant la réactivité dans la remontée de l'information et dans la prise de décision. La formation des personnes et le suivi de cette formation revêt, elle aussi, un caractère primordial. Les missions du vétérinaire sanitaire et du comité d'éthique sont également essentielles, respectivement dans le diagnostic et la prescription d'un traitement éventuel, d'une part, la définition de 'end points' appropriés, favorisant la prise de décision, ainsi que la revue systématique des plans d'étude dès leur élaboration, d'autre part.

Parmi les moyens utilisés, citons d'abord le glossaire clinique dont le contenu et la gestion doivent être rigoureux et formalisés. Le système de recueil de données s'inscrit également dans cette logique de rigueur et de réactivité en permettant à la fois l'enregistrement des observations cliniques de façon optimisée et une restitution des données immédiate sous divers formats, permettant une interprétation facile et rapide.

Une communication de tous les instants entre les différents acteurs cités sera l'élément clé indispensable à la réussite des objectifs recherchés, tant réglementaires qu'éthiques.

En conclusion, réactivité, responsabilisation, motivation, communication et sensibilisation des personnes de terrain, couplées à un système de recueil des données adapté et bien maîtrisé, sont des pré requis indispensables à un suivi clinique de qualité. Qualité scientifique et éthique car, on l'aura compris, les deux aspects sont définitivement indissociables.

Les Lagomorphes : Combinaison des effets

Jean-Marc Roussel,

Centre Lago, Vonnas

Le développement d'une unité de production de lapin EOPS implique l'intervention de nombreux facteurs, nous pouvons citer l'alimentation, le statut sanitaire, les mesures préventives, les conditions environnementales, les équipements et les personnels.

L'objet de notre préoccupation demeure à l'évidence l'animal lui-même qui pour exprimer ses qualités biologiques, génétiques et physiologiques devra bénéficier de l'interaction positive de ces facteurs multiples qui relèvent de

notre capacité à mettre en œuvre de façon durable des moyens techniques et technologiques et d'en mesurer l'amélioration qualitative constante afin d'optimiser le bien-être de l'animal.

Le chien dans tous ses états

Marie WYCKMANS,

Responsable Service Nécropsie et Examens, Vétérinaire - CERB, Baugy

Il est important de parler du chien suite à la fréquence d'utilisation de cette espèce dans le cadre d'essais précliniques, mais également suite aux particularités liées à cette espèce. Ces particularités se notant au niveau de la physiologie, du comportement, de la biochimie, de la reproduction, mais également à beaucoup d'autres niveaux. Les personnes ayant à manipuler les chiens doivent avoir assimilé ces spécificités avant de commencer à manipuler les chiens. Celles-ci pouvant être perçues à trois niveaux : de la personne (connaissances), du chien (variabilités) et des études (résultats) dans lesquelles les chiens interviendront.

La connaissance de ces spécificités ne suffit pas, il faut en outre pouvoir établir un suivi des animaux de manière à déceler rapidement un problème ou à pouvoir interpréter correctement les résultats obtenus lors des études. Il existe plusieurs manières de faire ce suivi : les principales catégories étant le comportement (animal dans son box, lors de manipulation, le matin, lors du repas,...), les paramètres physiologiques (fréquence cardiaque, cycle nyctéméral,...), les examens complémentaires (ophtalmologie, ECG, radiologie, urologie,...) et le suivi sanitaire (vaccin, vermifugation). Tous ces paramètres apportant un point de vue différent de l'état de l'animal, aucun n'est inutile et aucun n'est parfait. Lors de l'établissement du suivi des chiens les méthodes choisies le seront au cas par cas et principalement selon le type d'étude (exemple l'ECG est nécessaire pour une étude de cardiologie, ce qui n'est pas forcément le cas pour une étude de toxicologie). Les facteurs prix et temps doivent également être pris en considération lors de l'élaboration du suivi des chiens.

Un chien "normal" est un chien sain, c'est-à-dire que son comportement, ses paramètres physiologiques et ses résultats à tout examen complémentaire auquel il a été soumis sont dans les normes attendues pour cette espèce. Un chien sain est en outre exempt de toutes pathologies. La modification d'un ou de plusieurs des paramètres étudiés hors des normes établies doit être considérée comme un signal d'alarme.

Les symptômes rencontrés peuvent être dus à un effet direct de la substance testée mais également dus à une pathologie ou à un mal-

être. Il n'est pas toujours aisé de savoir à quelle catégorie de ces sources apparten(en)t le (ou les) symptôme(s) observé(s). Si la relation traitement-symptômes est parfois clairement établie ce n'est pas toujours le cas, notamment lors d'effet cumulatif ou lors d'effet à long terme de la substance testée.

Le chien n'est pas le seul carnivore domestique utilisé en recherche. Les autres carnivores utilisés sont le furet et le chat. Ces deux espèces ont également leurs caractéristiques propres.

Observation des primates

Christophe Cahours,
BioPrim , Baziège

PRÉSENTATION VIDÉO.

I AVANT IMPORTATION

- Origine des élevages
- Quarantaine avant départ
- Station animalière de Roissy

II BIOPRIM

- Transport/Réception
- Observations journalières
- Examens cliniques
- Départ

Soins et problèmes posés par le développement d'une animalerie étudiant le vieillissement

Claude Sebban / Héléna Cois,
Laboratoire de biologie du vieillissement, Hôpital Charles Foix, Ivry sur Seine

Les problèmes posés par le développement d'une animalerie destinée à l'étude du vieillissement sont en fait autant des problèmes de gestion et d'organisation que des problèmes de soins.

I - Déterminer le volume de l'animalerie

Il faut d'abord déterminer les besoins d'animaux en expérimentation et plus précisément combien d'animaux seront utilisés par classe d'âge et avec quelle périodicité. Il faut ensuite disposer d'une courbe de la mortalité spontanée des animaux. Ces deux éléments permettent un calcul assez simple indiquant quel effectif d'animaux jeunes doit entrer par mois dans l'animalerie.

II - Organiser la production d'animaux jeunes

La reproduction sera guidée par les besoins d'animaux jeunes déterminés précédemment. L'organisation de la maternité est basée sur des règles simples : les cages de reproduction comportant systématiquement deux femelles pour un mâle, les reproducteurs étant remplacés tous les 6 mois. Le volume de cette activité peut être déterminé si des données suffisantes concernant la fertilité de la souche sont connues.

Les cages de la zone reproduction sont examinées avec une périodicité hebdomadaire. Les femelles et leur portée sont placées en zone maternité, une nouvelle femelle complète la cage de reproduction. La stabulation en maternité dure 3 à 4 semaines. A l'issue de cette période le sevrage des jeunes animaux est immédiatement suivie d'un marquage individuel, absolument nécessaire dans la perspective d'une animalerie du vieillissement.

III - Stabulation dans l'animalerie du vieillissement

Quelques éléments sont importants à prendre en compte pour ces stabulations pouvant être de très longue durée : les cages à fond plein sont nécessaires pour éviter les blessures des pattes des animaux, la nourriture doit tenir compte de la longue durée de stabulation, le nombre d'animaux par cage doit être modifié en fonction de leur évolution pondérale. Enfin les préoccupations de "l'environnement" (cages riches ou pauvres) ne sont pas faciles à résoudre. Etudier deux environnements implique de doubler le volume global de l'animalerie.

IV – Les registres

La tenue du registre entrée – sortie est loin d'être suffisante pour la gestion d'une animalerie du vieillissement, un registre de gestion de la reproduction maternité et un registre de stockage sont en outre nécessaires pour une animalerie de vieillissement.

V - L'hygiène et la surveillance sanitaire

Un change hebdomadaire et une surveillance bi-hebdomadaire de la nourriture et de la boisson paraissent suffisants. Pour ces animaux à longue stabulation il est déconseillé de changer le personnel assurant cette activité de change. L'essentiel reste le maintien d'une hygiène scrupuleuse, seule façon d'éviter la survenue d'épidémie pouvant détruire un tiers de l'effectif de ce type d'animalerie, ce qui représente une perte financière considérable compte-tenu de la durée d'élevage de ces animaux.

La bien-traitance chez les rongeurs : cas particulier pour les animaux obèses

Gérard Laskri-Liegeois, Marie-Thérèse Calmettes, Anne-Dominique Degryse

Service de Zootechnie, Pierre Fabre, Castres

La bien-traitance appliquée à tous les rongeurs s'inscrit de même pour les souches d'animaux obèses mais demande de prodiguer en plus des soins particuliers et spécifiques à ces animaux qui par leur statut différent des souches d'animaux standard.

Ces soins seront adaptés à leur statut d'animaux obèses.

Il conviendra de prendre en compte différents facteurs liés à leur obésité, tels que parmi d'autres, l'excès de poids et leur activité motrice réduite. Il sera nécessaire de choisir en effet une litière et un mode d'abreuvement adéquats, ainsi qu'un matériel adapté pour la réalisation des études.

L'expérience des zootechniciens ainsi qu'une vigilance accrue à l'égard de ces animaux auront permis de mettre à jour les points faibles de ces souches qui, de par leur embonpoint sont devenues oisives, délaissant ainsi leur aspect physique. C'est pourquoi une surveillance et assistance particulière et permanente sont nécessaires jusque dans leur toilette intime.

L'entraînement des primates pour coopérer dans le suivi clinique et les soins

Jean-Marc Héliès, Fanélie Wanert, Nicolas Herrens Schmidt,

Centre de Primatologie-ULP Strasbourg, Fort Foch, Niederhausbergen

Les nouvelles recommandations européennes en matière d'expérimentation animale chez les primates insistent sur la diminution de la contention forcée et encouragent l'entraînement des animaux à coopérer. Le conditionnement opérant par renforcement positif est une technique d'apprentissage de comportements qui va dans le sens de ces recommandations. Par un système de "clic + récompense" les animaux sont entraînés étape par étape à se positionner au niveau d'une cible et à présenter différentes parties du corps pour examens ou actes médicaux. Cette coopération permet de faciliter l'examen clinique, les injections et les prélèvements en limitant la contention forcée.

On peut ainsi entraîner un singe à présenter un membre postérieur pour une prise de sang ou à présenter son arrière-train pour une injection intramusculaire.

Les bénéfices du conditionnement opérant pour la bien-traitance des animaux sont multiples (gestion des conflits, diminution du stress de contention, enrichissement, et amélioration du suivi sanitaire).

Cette présentation a pour but d'expliquer la méthode et d'aborder quelques exemples d'applications (injection intramusculaire, manipulation du membre postérieur, administration orale, prise de température).

Le test d'Irwin, un exemple de méthode de quantification du comportement chez le rongeur

Violaine Rozand,

MDS Pharma Services, Saint Germain sur l'Arbresle

Les agences réglementaires imposent à tous les laboratoires voulant valider une nouvelle drogue candidate dans le cadre préclinique de la tester sur au moins trois fonctions physiologiques dites vitales (cardiovasculaire, respiratoire et système nerveux central -SNC-). Les tests doivent être conduits selon les BPL. Ils doivent donc être le moins possible dépendants de l'équipement, être "simples", reproductibles et validables.

Plusieurs tests peuvent être réalisés sur le SNC, dont le test d'Irwin, qui correspond à un test d'observation le plus exhaustif possible du comportement.

A travers un exemple de comportement vidéo-filmé, nous illustrerons les problèmes rencontrés lors de l'évaluation de l'effet d'une drogue candidate sur le SNC d'un rongeur.

D'un point de vue historique, plusieurs auteurs se sont intéressés à la quantification d'un comportement SNC, en particulier IRWIN (1968) et MOSER (1989). Ces auteurs ont établi une grille de score pour qualifier et quantifier (ou semi quantifier) un comportement. Cette grille permet de mettre en évidence les fonctions gérées par le SNC. Le principe de base de cette cotation est d'associer une échelle de valeurs à un comportement en situant le comportement considéré comme normal en milieu d'échelle.

Le test d'Irwin se déroule en trois étapes : une observation de l'animal dans sa cage, lors de la manipulation par l'expérimentateur et enfin dans une arène neutre (Open Field) dans laquelle l'animal va exprimer un comportement d'exploration. On observe l'animal à différents temps après administration de la drogue candidate.

Pour chaque étape, on quantifie les effets de la drogue candidate sur une batterie de paramètres associés à l'activité motrice, sensori motrice et végétative de l'animal (exemple : position, stéréotypies, salivation, réaction au bruit). Ces paramètres sont accompagnés par la mesure de la force d'agrippement, de la température corporelle et du poids.

Le test d'Irwin permet de catégoriser la nature neurochimique de la drogue candidate testée. En particulier, les modifications du comportement dans l'Open Field peuvent signer des effets sur les émotions pouvant traduire des effets anxiolytiques. L'orientation des stéréotypies (verticales / horizontales) peut signer quant à elle des effets neuroleptiques.

Pour conclure, le test d'Irwin, malgré son apparente simplicité et la facilité de sa mise en œuvre permet de quantifier de façon reproductible les comportements associés au fonctionnement du SNC chez le rongeur, à condition de bien savoir maîtriser les divergences inter et intra expérimentateurs et de bien connaître et reconnaître le comportement considéré comme normal d'un rongeur.

Vigie Primate®, capteur de comportement, de bien-traitance

Bruno Girier,

View Point , Champagne au Mont d'Or

Depuis plus de 20 ans, la vidéo est utilisée pour des applications liées à la surveillance d'animaux de laboratoires.

Tout d'abord cantonnée à des fins de visualisation et d'enregistrement, elle a rapidement suscité des demandes de la communauté scientifique pour en extraire une information pertinente, fiable et objective.

Les premières applications "intelligentes" ont été essentiellement orientées vers la pharmacologie pour des tests de locomotion et de mémoire. L'évolution des demandes a conduit ensuite à l'élaboration de systèmes permettant une analyse sur le primate ou le chien pour des applications telles la cardiologie ou la maladie de Parkinson.

La tendance actuelle d'utilisation de la vidéo est particulièrement marquée par un changement des modèles expérimentaux pour utiliser des poissons ou des invertébrés autorisant des screenings sur un nombre très important d'animaux.

Nous exposerons dans cette intervention, les différentes approches quant à la mise en œuvre de la vidéo pour les sciences du vivant et les gains qu'elle permet d'attendre pour les utilisateurs mais aussi pour les animaux.

MODÈLES ET SERVICES

DISPONIBLES CHEZ CHARLES RIVER LABORATORIES

RATS
CD[®] IGS / OFA
Wistar
Wistar Han
F344
Brown Norway
SHR
ZDF
Zucker
Hairless
Lister Hooded



SOURIS
C57
BALB/c
C3H
DBA/2
CD-1[®] (ICR)/OF1
B6C3F1
CD2F1
B6CBAF1
BDF1



MODÈLES PATHOLOGIQUES
Diabétique
Obèse
Hypercholestérolémiant

MODÈLES IMMUNODÉFICIENTS
CD-1[®] Nude /Swiss Nude
NOD SCID
BALB/c Nude
SCID
Rat Nude



MODÈLES SUPPLÉMENTAIRES
Cobayes Hartley
Cobayes Hairless
Hamsters
Gerbilles
Lapins NZW



Sites de production implantés
dans toute l'Europe

Laboratoires dédiés à la chirurgie

Unités spécifiques
pour les services transgéniques

Laboratoire d'embryologie
et de cryoconservation

Laboratoire de contrôles
sanitaires et génétiques

Installations spécifiques
pour les modèles préparés
et les protocoles à façon

Consultance, équipement
et gestion d'animaleries



CHARLES RIVER
LABORATORIES
Research Models and Services

Pour une liste complète des modèles de recherche
et services disponibles chez Charles River Laboratories,
visitez notre site web www.criver.com
ou contactez-nous via products@eu.crl.com

Prélèvement de lait chez la ratte en toxicologie réglementaire

Bernard Durand, Paul Barrow
Présentation à l'ATTE (Association des Techniciens de Toxicologie Expérimentale) en Juin 2001

MDS Pharma Services,
69210 Saint Germain sur l'Arbresle, France

Justification

Certains protocoles de toxicologie du développement demandent d'évaluer le taux de substances d'essai ou de ses métabolites dans le lait (ICH, 1994). En cas d'un retard de croissance des petits avant le sevrage, il peut être intéressant d'évaluer la composition biochimique du lait. Ou encore, pour les essais sur les vaccins il est parfois nécessaire de déterminer le taux de transfert des anticorps maternels dans le lait (Verdier et al, 2003).



Composition du lait chez le rat Sprague Dawley
(BARROW et al, 1995)

Paramètre	Concentration
Na	1500 mEq/l
K	1000 mEq/l
Mg	210 mg/l
Ca	3100 mg/l
P	1800 mg/l
Pi	0.9 g/l
Glucose	15 g/l
Protéine - méthode de Lowry	71 gBSA/l
Protéine - méthode de Bradford	55 gBSA/l
Lactose	15 g/l
Matières grasses	9% v/v

Méthode de prélèvement de lait

La méthode proposée est une méthode simple qui ne nécessite aucun appareillage ni injection d'ocytocine.

Le prélèvement de lait se fait par massage manuel des mamelles.



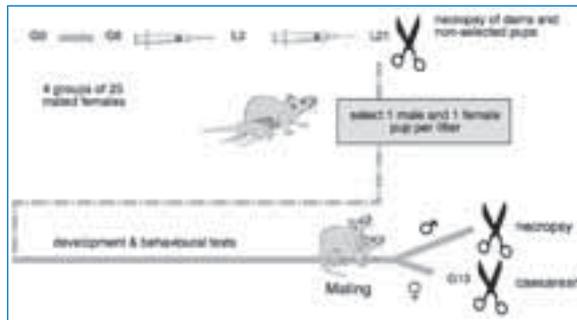
Conditions optimales



Animaux : Rats femelles Sprague Dawley OFA SD, âgées d'environ 12 semaines à l'accouplement.

Le moment idéal pour réaliser ce prélèvement de lait se situe entre le 7^{ème} le 14^{ème} jour de lactation.

La taille de portée idéale est de 8 à 12 petits pour garantir une production de lait suffisante.



ICH pre- and post-natal toxicity study (rat). G = day of gestation. ©Academic Press (Barrow, 2000)

Préparation

La veille du prélèvement les petits sont retirés de la mère et euthanasiés ou mis sous une mère nourricière.

Récolte du lait

Le jour du prélèvement :

- maintenir la ratte en décubitus latéral,
- présenter le mamelon à prélever au dessus d'un tube à hémolyse,
- masser la glande mammaire avec 2 doigts pour amorcer l'écoulement du lait,



- continuer le massage jusqu'à arrêt de l'écoulement de lait,



- passer à la mamelle suivante et ainsi de suite jusqu'à obtention du volume souhaité.



Il est possible de prélever assez facilement 0,5 à 1ml de lait par ratte.

Conclusion

Cette technique de prélèvement a l'avantage d'être très simple. Elle ne fait appel ni à l'utilisation de dispositifs plus ou moins sophistiqués, ni à l'injection d'ocytocine préconisée dans d'autres méthodes, ni à l'anesthésie de l'animal.

Elle est rapide. En fonction de la quantité de lait produite par la mère, la durée du prélèvement varie de 2 à 4 minutes.

Enfin cette technique est applicable avec le même succès chez la souris.

BIBLIOGRAPHIE

BARROW, P. Reproductive and developmental toxicology safety studies. In: The laboratory rat. Ed. Krinke. Academic Press, London; ISBN 012426400, pp 199-225 (2000).

BARROW, P. C., OLIVIER, P. & MARZIN, D. The reproductive and developmental toxicity profile of beta-cyclodextrin in rodents. *Reproductive Toxicology* 9: 4 389-398 (1995).

ICH. Step 4 tripartite harmonised guidelines. Detection of toxicity to reproduction for medicinal products. In: D'Arcy P.F. and Harron, D.W.G. (Eds). *Proceedings of The Second International Conference on Harmonisation* Orlando, Queen's University, Belfast, pp. 557-578 (1994).

VERDIER, F., BARROW, P.C. & BRUGE, J. Reproductive toxicity testing of vaccines. *Toxicology* 185: 213-219 (2003).



La désinfection de toutes les surfaces, y compris celles inaccessibles ou cachées

Grâce à un système unique de diffusion par brouillard sec et un désinfectant très performant, Sterinis garantit une destruction massive des micro-organismes pathogènes.

Sterinis® :

- un nouveau procédé à hauts pouvoirs de désinfection
- une solution en matière de prévention des risques de contaminations et d'infections.

Un procédé qui donne entière satisfaction aux professionnels de l'animalerie expérimentale

COMPOSITION DU DESINFECTANT (Sterusil®)

Substance :	Peroxyde d'Hydrogène H ₂ O ₂	5%
	Cations Ag ⁺	< 50 ppm
Exipient :	Eau bi-osmosée	95%
Stabilisant :	Acide ortho phosphorique	< 50 ppm

- **SANS FORMALDEHYDE**
- **BIOCIDE** (DIRECTIVE CE 98/8)
- **NON CORROSIF**
- **NON TOXIQUE**
- **BIODEGRADABLE** (99,99%)



- Large spectre (actif sur l'ensemble des germes)
- Virucide, bactéricide, fongicide, sporicide
- 2 molécules actives (prévention des risques de résistance)
- Cartouches inviolables, à usage unique et détectables électroniquement
- Conditionnement : 2 litres
- Péréemption longue : 12 mois

Sterinis® : Un procédé éprouvé

- Validations en laboratoires, en conditions réelles d'utilisation en milieu hospitalier (Blocs opératoires, réanimation...) et en animaleries expérimentales
- Conforme aux normes EN et AFNOR
- Système de traçabilité embarqué
- Grande facilité d'utilisation et d'assimilation
- Réduction des coûts de désinfection



Pour toute information :
Tel : 05 62 88 42 22 Fax : 05 62 88 36 85
commercial@gloster-sante-europe.com
www.sterinis.fr

Groupe Francophone de Réflexion sur la Télémétrie

4^E COLLOQUE

NOVOTEL ATRIA (NÎMES) – 2&3 FÉVRIER 2006

Comité d'organisation

- Alexandra Basset
- Estelle Chalencon
- Sabine Gribaudo
- Pierre Lainée
- Eric Rieux
- Laurence Somody

Secrétariat scientifique

- Alexandra Basset - E-mail : alexandra.basset@sanofi-aventis.com
- Eric Rieux - E-mail : erieux@datasci.com

Secrétariat administratif

Alpha Visa Congrès / GFRT 2006

624, rue des Grèzes - 34070 Montpellier

Tél. : +33 (0)4 67 03 03 00

Fax : +33 (0)4 67 45 57 97

E-mail : gfrt2006@alphavisa.com

Résumé

Le colloque GFRT 2006 a rassemblé une centaine de participants, avec un programme varié présentant des modèles animaux originaux et novateurs.

Les tendances qui se sont dégagées au travers des présentations et discussions :

- Une meilleure intégration et complémentarité des paramètres mesurés, permettant d'obtenir le plus d'information possible pour chaque animal.

- Développement de modèles utilisant les mesures de bio-potentiels : EEG pour études sur épilepsie et sommeil ; EMG pour études portant sur respiration, contraction utérine, douleur.

- Les logiciels et l'informatique contribuent à optimiser les données obtenues: surveillance, comportement, et intégration de données.

- Evolution des systèmes de télémétrie permettant de faire des mesures sur des animaux hébergés en groupe.

Les discussions sur les techniques chirurgicales ont démontré la variété des approches, et ont rappelé l'importance de la maîtrise des conditions opératoires et du suivi postopératoire.



Présentations orales

01 Validation technique et biologique de l'activité physique chez le rat instrumenté en télémétrie

S. Kaïdi⁽¹⁾, F. Van Deun⁽¹⁾, W. Dewé⁽²⁾ & A. Delaunois⁽¹⁾

⁽¹⁾ Département de Toxicologie,

⁽²⁾ Département de Statistique. Lilly Development Center, Mont-Saint-Guibert, Belgique

Auteur correspondant : kaidi_safia@lilly.com

La télémétrie chez le rat est utilisée depuis plusieurs années dans notre laboratoire pour mesurer les paramètres cardiovasculaires et la température corporelle. C'est un outil utile et non invasif permettant de détecter les effets secondaires cardiovasculaires potentiels des produits testés en phase préclinique du développement des médicaments.

Le paramètre de l'activité physique (AP) peut aussi être généré par les implants de télémétrie sans changer la technique d'instrumentation. Cependant, ce paramètre n'avait jamais été validé auparavant.

Le but de cette étude était de valider l'AP comme paramètre additionnel dans les études de télémétrie chez le rat afin d'aider à une meilleure interprétation des données cardiovasculaires. Des rats Sprague-Dawley mâles instrumentés avec des implants de télémétrie (TL11M2-C50-PXT) ont été utilisés dans cette étude réalisée en 3 étapes :

1. Validation technique consistant à évaluer la qualité du signal d'activité généré par l'implant seul ou implanté dans un rat d'une part, et à comparer d'autre part les données d'AP enregistrées par télémétrie et les observations d'un rat instrumenté filmé par caméra.

2. Enregistrement de données de ligne de base pendant 4 jours chez 8 rats et identification du cycle circadien de l'AP.

3. Validation biologique consistant à distinguer les produits induisant des effets hémodynamiques et des effets sur l'AP, de ceux induisant seulement un effet hémodynamique sans aucun effet sur l'AP. Pour cette 3^{ème} étape, un total de 8 rats ont reçu soit du diazépam (2.5 et 5 mg/kg) ou du propranolol (5 et 10 mg/kg), ou de la nicotine (0.5 et 1 mg/kg), ou de la nifédipine (3 et 10 mg/kg) ou de la nitroglycérine (5 et 10 mg/kg) en injection sous-cutanée ou intrapéritonéale.

Les données cardiovasculaires et d'AP ont été enregistrées pendant 5h après traitement, pendant la journée ou bien pendant 24h (toute la nuit).

Les résultats ont démontré une corrélation positive entre :

- le nombre et l'amplitude du mouvement de l'implant seul et le nombre de comptes enregistrés par télémétrie ;

- le déplacement horizontal de l'animal et le nombre de comptes enregistrés par télémétrie (RSQ = 0.85) ;

- les données enregistrées par un observateur ($0.75 < r < 0.90$) et l'AP enregistrée par télémétrie.

Les données de ligne de base montrent un rythme circadien de l'AP parallèle au rythme circadien de pression artérielle, de fréquence cardiaque et de température corporelle (un rythme élevé pendant la nuit et bas pendant la journée). Le diazépam et la nicotine ont induit tous deux une tachycardie et une hypertension, cependant le diazépam a provoqué une diminution de l'AP alors que la nicotine a entraîné une hyperactivité. Le propranolol a provoqué une hypertension, une bradycardie et une augmentation de l'AP. La nifédipine et la nitroglycérine ont eu un effet typique hypotenseur, sans aucun effet sur l'AP.

En conclusion, la mesure de l'AP par télémétrie reflète bien l'activité mesurée par un observateur, en particulier pour les déplacements horizontaux de l'animal. En outre, nous avons pu distinguer l'effet stimulant ou dépresseur de produits de référence sur l'AP, cet effet étant accompagné ou non de changements dans les paramètres cardiovasculaires.

02 Effets de l'isolement sur la température corporelle et le rythme nyctéméral de la souris Comparaison de 2 techniques de radio-télémétrie (Data Sciences et ReTech Electronics)

C.R. Schnell & A.E. Burstert

Angiogenesis Unit, Oncology, Novartis Institutes for Biomedical Research, Bâle, Suisse

Auteur correspondant : christian.schnell@novartis.com

Grâce à l'utilisation d'un nouveau système de transpondeur (c'est-à-dire un système sans batteries capable de répondre à la sollicitation d'un signal radioélectrique et de renvoyer des informations d'identification convenues) de ReTech® Electronics, nous avons pu enregistrer en continu et simultanément la température corporelle (Tc) au sein d'un groupe de 6 souris maintenues dans une même cage (L : 37 cm, l : 22 cm, h : 15 cm).

Suite à une période d'adaptation de 2 jours après l'implantation intra-péritonéale du transpondeur CBS400 (Ø : 1.3 cm, épaisseur : 4.5 mm, body/transmitter ratio : 20/1 = 5 %), un rythme diurnal stable et constant de la Tc a déjà pu être mis en évidence. Les valeurs moyennes de Tc (jour : 37.6 °C, nuit : 39 °C) mesurées chez les souris (C57BL6, 20 g) tenues en groupe sont significativement supérieures aux valeurs

obtenues par mesure radio-téléométrique traditionnelle (TA-F20, DSI, body/transmitter ratio : 20/3.8 = 19 %) chez la souris en isolation (jour : 36.4 °C, nuit : 37.4 °C). Nous avons également pu étudier l'effet de la croissance tumorale sur le rythme circadien de la Tc dans un modèle orthotopique du mélanome murin.

Des résultats préliminaires portant sur la mesure concomitante de la pression artérielle (par PA-C10, DSI) et de la Tc (par CBS400) chez la souris en combinant les 2 différentes technologies, seront également présentés.

En conclusion, l'isolation d'une souris de son groupe entraîne une hypothermie persistante de la Tc de base ainsi qu'une réduction de l'amplitude du rythme nyctéméral de la Tc.

C'est l'utilisation de modèles animaux mieux adaptés et plus prédictifs, associée à l'emploi de nouveaux procédés radio-téléométriques miniatures sur l'animal conscient, non restreint, et maintenu dans son environnement social, qui va permettre au pharmacologue de demain de mieux appréhender les propriétés pharmacologiques et pharmacodynamiques d'une molécule en étude, tout en améliorant le bien-être de l'animal.

03 Enregistrements téléométriques de longue durée et méthodes de traitement du signal adaptées : application à l'enregistrement de l'activité contractile de l'utérus

J. Terrien⁽¹⁾, C. Marque⁽¹⁾ & G. Germain⁽²⁾

⁽¹⁾UTC, Département de biomécanique et génie biomédical, Compiègne; ⁽²⁾INRA, Département de physiologie animale et systèmes d'élevage, Jouy-en-Josas

Auteur correspondant : jterrien@utc.fr

L'activité contractile de l'utérus est mesurée par tocographie externe ou par enregistrement de la pression intra-utérine (PIU). De nombreuses études montrent que l'activité électrique générée par l'utérus, l'électrohystérogramme (EHG), permet aussi le suivi et l'analyse de la contractilité utérine. L'EKG comprend deux composantes spectrales, l'une de basse fréquence, FWL, liée à la propagation de l'activité électrique de l'utérus, l'autre de haute fréquence, FWH, liée à l'excitabilité de l'utérus. Chez l'animal, les enregistrements téléométriques de la PIU ou de l'EKG permettent un suivi de toute la gestation, mais imposent certaines contraintes méthodologiques, tant dans l'acquisition que dans le traitement des données.

Pour l'étude des répercussions de la position du placenta sur les caractéristiques de l'EKG, chez le singe cynomolgus gravide, nous utilisons un capteur téléométrique (TL11M3-D70-CCP) à deux voies électromyographiques et un capteur de pression. L'implantation du capteur est réalisée à 120 jours de gestation et, est associée

à un traitement tocolytique, anti-inflammatoire et antibiotique. Les enregistrements sont réalisés ensuite en continu jusqu'à l'accouchement. Malgré une fréquence d'échantillonnage relativement faible (50 Hz pour chacune des voies), les fichiers obtenus présentent une taille importante. Certaines femelles ont mis bas prématurément en raison du caractère invasif de la prise de pression sur des utérus fortement irritables. Nous diminuons le risque d'accouchement prématuré en suturant le cathéter de pression sur la paroi externe de l'utérus. Cette disposition permet de repérer les contractions (CT), mais augmente la sensibilité aux artefacts de mouvement de l'animal. Les signaux d'EKG présentaient toujours un excellent rapport signal/bruit. Par contre, nous avons observé, de manière plus ou moins marquée, une internalisation des électrodes. L'augmentation de l'impédance inter-électrode aboutit à une diminution de l'amplitude des signaux avec l'avancée du terme ce qui peut fausser les interprétations physiologiques.

En début de gestation, les CT présentent, un caractère polyphasique et deviennent principalement monophasiques pendant le travail. Nous avons confirmé ces changements sur la plupart des femelles utilisées. Cependant, pour une d'entre elles, nous avons observé même pendant le travail (prématuré) un grand nombre de CT polyphasiques. Nous avons montré, par l'analyse spectrale des bouffées d'EKG, que ces contractions présentaient une faible énergie de la composante FWL (moins bonne propagation) mais une composante FWH située dans les hautes fréquences (excitabilité importante) ce qui expliquerait l'efficacité du travail malgré une moins bonne propagation. Dans les situations étudiées, nous avons aussi constaté une grande différence d'énergie des EKG avec pour certaines femelles une chute de l'énergie des EKG avec l'avancée du terme. Ces différences pourraient être expliquées par les différences d'impédance inter-électrode entre chacune des voies ou une internalisation des électrodes. Nous nous affranchissons de ces problèmes par l'analyse de l'énergie relative des spectres des EKG et une représentation temps-fréquence adaptée.

Les enregistrements téléométriques de longue durée permettent d'étudier l'évolution de phénomènes physiologiques en condition non stressante pour l'animal. Cependant, l'implantation des capteurs peut être une étape critique dans le bon déroulement de l'expérience comme l'accouchement prématuré des guenons dans notre étude. De plus, il est important de considérer les variations des conditions expérimentales (impédance inter-électrodes...). L'analyse dans le domaine fréquentiel, associée ou non à l'énergie relative dans chacune des fréquences, permet de s'affranchir de ces changements tout en conservant les informations sur le système étudié. Les enregistrements continus permettent aussi de mettre en évidence un comportement particulier du

phénomène étudié, comme la présence d'un rythme circadien que nous avons pu observer pour l'EHG.

04 L'expression EEG des crises épileptiques dépend du degré de dommage cortical : étude d'un modèle d'épilepsie temporale en télémétrie

J. François, E. Koning, A. Ferrandon & A. Nehlig

INSERM U666 Faculté de Médecine, Strasbourg

Auteur correspondant : j.francois@alsace.u-strasbg.fr

L'épilepsie du lobe temporal est fréquente et associée à des crises partielles provenant du lobe temporal. La plupart des patients ont subi une agression initiale durant l'enfance suivie d'une phase de latence avant l'apparition de crises épileptiques chroniques. Cette pathologie est associée à une sclérose de l'hippocampe et à des lésions dans les structures mésiotemporales. Le modèle lithium-pilocarpine chez le rat reproduit les principales caractéristiques temporelles, comportementales et neuropathologiques de la pathologie humaine. Dans ce modèle, il a été démontré qu'un traitement (FRK) possédant des propriétés neuroprotectrices marquées permettait également de ralentir ou d'empêcher le développement de crises chroniques spontanées chez une partie des rats traités.

Le but de cette étude a donc été d'étudier les perturbations EEG chez des rats traités durant la phase aiguë, la phase de latence et la phase chronique à l'aide d'enregistrements EEG continus en télémétrie.

Un capteur TA11CA-F40 est implanté chez des rats adultes par voie intrapéritonéale ; les électrodes sont ensuite passées sous la peau jusqu'à atteindre la tête. Le crâne est perforé pour placer les électrodes en contact avec la surface du cerveau de manière à obtenir une déviation fronto-pariétale. Un état de mal est induit par une injection de chlorure de lithium (3 meq/kg) et de pilocarpine (25mg/kg). Les rats sont traités à 1 heure d'état de mal par le FRK. Les enregistrements en télémétrie débutent 30 mn avant l'induction de l'état de mal et sont maintenus en continu durant 1 à 5 mois. Un groupe non traité par le FRK est également enregistré. Afin de corréliser l'EEG avec les dommages neuronaux dans les structures impliquées dans le circuit des crises, des comptages sont réalisés sur des coupes colorées par la thionine.

L'état de mal se caractérise par des bouffées de pointes continues puis évolue vers des décharges épileptiformes rythmiques. Deux heures après l'injection du traitement, une partie des rats présente un EEG similaire aux témoins, l'autre présente un EEG quasiment plat. Lors de la phase de latence, les rats non traités

présentent des pointes isolées ou en bouffée. Chez les rats traités, on distingue 3 groupes : l'un similaire aux témoins, le second présentant des pointes isolées ou en bouffée et des bouffées de pointes-ondes de fréquence 5 à 9 Hz et enfin le troisième qui présente uniquement des pointes-ondes. Ces différentes perturbations peuvent être corrélées avec le devenir épileptique des rats. En effet, les rats traités présentant un tracé EEG atténué au moment de l'état de mal et des pointes-ondes durant la phase de latence ne développeront pas de crises chroniques après cinq mois. D'autre part, les comptages neuronaux réalisés dans les cortex entorhinal et piriforme montrent une corrélation entre la survenue des pointes-ondes et le degré de protection de ces cortex.

Les résultats préliminaires obtenus dans cette étude en télémétrie montrent qu'il semble possible de présager du devenir épileptique des rats à partir des modifications EEG observées durant la phase de latence et du degré de protection observé dans les cortex.

05 Pharmaco-électroencéphalographie (EEG) chez le rat télémétré : application à la pharmacologie de sécurité

X. Chénéde, H. Barret, M. Durand, M. M'Harzi, J-M.Guillon, D. Caille

Groupe Sanofi-Aventis, Pharmacologie de Sécurité, 3, digue d'Alfortville, 94140 Alfortville

OBJECTIF

Etudes d'agents pro- et anti-convulsivants sur l'activité électroencéphalographique corticale du rat par télémétrie.

MÉTHODES

Des rats adultes de souche Sprague-Dawley ont été instrumentés pour l'enregistrement de l'EEG cortical par télémétrie et l'analyse des différentes bandes de fréquence de l'EEG (cf. Résultats). L'étude a porté sur les effets du diazepam (20 mg/kg p.o.), de l'halopéridol (5 mg/kg p.o.), de la caféine (120 mg/kg p.o.), et du pentylenetetrazole (PTZ) à une dose subconvulsivante (25 mg/kg par la voie intrapéritonéale), ainsi que sur la potentialisation des effets du PTZ par la caféine et son antagonisme par le diazepam. Les mêmes animaux ont été leurs propres témoins, répartis de façon équilibrée dans les différents traitements, espacés de 3 jours de 'wash out'.

RÉSULTATS

1) Le pentylenetetrazole a induit des épisodes de décharges épileptoïdes apparues dès les premières secondes suivant l'administration, sans apparition de crises de convulsion.

2) la caféine a induit une augmentation (+31 %) de la bande de fréquence θ (d'origine hippocampique) rapide (6,6 – 8 Hz), suivie par une diminution (-78 %) de ce rythme, de même

qu'une augmentation (+90%) du thêta lent (3,6 - 6,5 Hz).

3) Le diazepam a induit une augmentation des fréquences lentes (0 - 3,5 Hz ; +75 %) et du thêta lent (3,6 - 6,5 Hz ; +87 %), de même qu'une diminution (-43 %) du thêta rapide.

4) L'halopéridol a induit une augmentation (+34%), précédée d'une diminution (-32 %) de courte durée (20 minutes), des fréquences lentes, ainsi que du thêta lent (+46 %). Il a, à l'inverse, induit une diminution (-20%), précédée d'une augmentation (+29%), du thêta rapide.

5) Alors que la caféine a potentialisé l'activité de la dose subconvulsivante de PTZ en augmentant significativement le nombre d'épisodes de décharges épileptoïdes (+55 %), voire en induisant un épisode de courte durée de convulsion clonique, le diazepam a, à l'inverse, très fortement antagonisé l'activité du PTZ en diminuant très significativement le nombre de ces épisodes (-96 %).

CONCLUSION

L'ensemble de ces résultats correspondent à ceux de la littérature (obtenus soit par télémétrie soit par enregistrement classique). En conclusion, la méthode d'enregistrement électroencéphalographique corticale, explorée ici par télémétrie, permettra d'étudier les effets pharmacologiques centraux dans des conditions techniques non contraignantes pour l'animal, en respectant scrupuleusement les conditions d'Éthique Animale.

06 Quantification des douleurs viscérales chez le rat par l'utilisation combinée des techniques de télémétrie et de barostat

N. Ongenae⁽¹⁾, J. Aerssens⁽¹⁾, B. Moreaux⁽¹⁾, J. Voeten⁽¹⁾, B. Michiels⁽²⁾, B. Ruymaekers⁽³⁾, J. Van de Ven⁽¹⁾ & B. Coulie⁽¹⁾

⁽¹⁾Johnson & Johnson Pharmaceutical R&D, une division de Janssen Pharmaceutica N.V., Beerse; ⁽²⁾CIT Engineering, Geel; ⁽³⁾Atos Origin, Zaventem, Belgique

Auteur correspondant :
nongenae@prdbe.jnj.com

L'hypersensibilité (ou hyperesthésie) viscérale est une des pathologies gastro-intestinales les plus communes. Chez les animaux, la douleur viscérale induite par distension d'une partie du système digestif peut être quantifiée par l'activité des muscles abdominaux au moyen d'un électromyogramme (EMG), cette réponse étant appelée la réponse viscéromotrice (RVM). Pour étudier les propriétés analgésiques de nouvelles molécules pharmacologiques, nous avons développé un modèle de douleurs viscérales chez le rat. Dans ce modèle, la RVM induite par une distension colo-rectale est mesurée par l'EMG chez le rat éveillé.

Chez les rats mâles SD, un transmetteur de télémétrie (C50-PXT, DSI), équipé d'une paire

d'électrodes bipolaires et d'un cathéter artériel est implanté chroniquement au niveau des muscles abdominaux et de l'artère fémorale respectivement, permettant des mesures simultanées de l'EMG, la pression artérielle moyenne (PAM), la fréquence cardiaque (FC) et la température corporelle au sein du même animal. Deux semaines après la chirurgie, sous anesthésie à l'isoflurane, un ballon est inséré dans la partie colo-rectale à 7 cm de l'anus. Les distensions colo-rectales (DCR) induites et contrôlées par un appareil barostat (G&J Electronics, Canada) sont exécutées avant et après administration de la molécule pharmacologique. Les données d'EMG, de PAM, de FC et de température corporelle d'une part, et de la pression et du volume intra-ballon d'autre part, sont synchronisées et envoyées vers un logiciel développé en interne et appelé VIP software. De plus, les paramètres dérivés tels que l'aire sous la courbe (AUC) et l'activité maximale (EMG-Max) de l'EMG sont automatiquement calculés et transférés vers notre base de données locale (Gillis VIP). Après validation, les données approuvées sont téléchargées dans la base de données globales incluant toutes les autres données aussi bien *in vitro* qu'*in vivo* liées aux différents projets.

Le développement de notre modèle permet d'évaluer l'activité pharmacologique de nouvelles molécules pour ses propriétés antinociceptives via les données d'EMG et tout en ayant des données de cardiogvigilance (changements FC et PAM) et du potentiel de pénétration centrale (changements de température corporelle) au sein du même animal. De plus, par la corrélation entre le volume et la pression intra-ballon appelée compliance colo-rectale, mesurée pendant les phases de DCR où la pression est sous le seuil de la douleur, la motilité colo-rectale peut être évaluée.

Nous avons combiné les techniques de télémétrie et de barostat dans un modèle de douleur viscérale chez le rat éveillé, et intégré toutes les données au sein d'une même base de données. Cette plate-forme permet simultanément, de mesurer la réponse viscéromotrice induite par la DCR, les effets cardiovasculaires, les changements de la température corporelle et de la motilité colo-rectale au sein du même animal réduisant le nombre d'animaux utilisés pour évaluer les effets de nouvelles molécules pharmacologiques pour ces différentes fonctions physiologiques.

07 La télémétrie diaphragmatique : une approche innovante de l'évaluation de la fonction respiratoire chez le primate

E. Chalencon & C. Bory
MDS Pharma Services

Auteur correspondant :
estelle.chalencon@mdsps.com

L'évaluation de la fonction respiratoire chez le primate en condition vigile est une approche difficile qui nous est de plus en plus demandée dans le cadre des études de télémétrie cardiovasculaire. Une approche a récemment été développée par mesure de la pression pleurale par Murphy et collaborateurs.

Cette méthode utilisée chez MDS Pharma Services sur l'animal vigile ne s'est pas montrée suffisamment précise pour quantifier les changements ventilatoires. En effet, l'amplitude des variations de la pression pleurale est fortement influencée par la posture de l'animal.

En utilisant une approche électrophysiologique conventionnelle, il a été montré que l'activité électromyographique (EMG) du diaphragme est un très bon index du volume tidal et de la bronchoconstriction chez l'homme comme chez l'animal.

Nous avons développé une méthode de mesure de la fonction respiratoire par enregistrement de l'EMG diaphragmatique par télémétrie.

Deux biopotentiels d'un implant du type TL11-M3-D70-CCTP ont été implantés dans la partie costale gauche du diaphragme. L'EMG est enregistré simultanément avec l'ECG, la pression artérielle et la température corporelle.

Afin d'analyser le signal EMG, celui-ci est filtré et rectifié.

Le modèle a été validé par administration de produits de référence (morphine, buspirone) et en comparant les résultats obtenus par cette méthode à ceux obtenus par des moyens conventionnels chez le singe anesthésié (hypercapnie, métacholine).

Cette méthodologie a aussi été validée chez le rat en plaçant les animaux télémétrés dans des chambres simples de pléthysmographie.

Notre étude a démontré que l'enregistrement de l'activité EMG du muscle diaphragmatique par télémétrie est un outil adapté à l'évaluation de la fonction respiratoire chez le primate et que cette approche peut être appliquée à d'autres espèces.

08 Pression artérielle chez la souris avec un nouveau transmetteur miniaturisé

J. L. Lavoie

**Centre de Recherche du CHUM et
Département de Médecine, Université de
Montréal, Montréal**

Auteur correspondant :
julie.lavoie.3@umontreal.ca

L'utilisation de la radiotélémétrie pour la mesure de la pression artérielle chez les rongeurs a permis de faire des études prolongées tout en maintenant les animaux dans leur milieu et sans les déranger. Toutefois, les premiers implants de souris développés par DSI, les C-20, étaient plutôt volumineux avec un poids d'environ 3 g, surtout compte tenu que la souris moyenne pèse 25-30 g. Lors d'étude prolongée, les souris

développaient souvent des plaies de pression et pouvaient même aller jusqu'à endommager les implants ce qui pouvait être nuisible aux études en cours. Ainsi, l'arrivée des nouveaux implants C-10 qui ont la moitié du poids amène la possibilité de réduire les problèmes reliés au C-20. En effet, suite à l'implantation, les souris récupèrent plus rapidement des chirurgies. De plus, nous n'avons pas observé le développement de plaie de pression dans aucune de nos souris suite à une implantation prolongée, soit d'environ 45 jours. De plus, nous caractérisons la pression artérielle de différents modèles de pré-éclampsie ce qui pourrait ajouter au développement de plaies de pression. En effet, la pré-éclampsie est une pathologie de la grossesse et donc, nous prenons des mesures avant et tout au long de la gestation. L'implant de télémétrie n'a aucun impact sur la durée de gestation, le nombre de fœtus ainsi que leur développement. L'utilisation de ces nouveaux implants nécessite certaines modifications des méthodes chirurgicales employées lors de l'implantation. Entre autres, il est préférable de faire une plus petite poche sous-cutanée pour insérer le corps de l'implant, en contraste avec les C-20, afin de maintenir l'implant sur le flanc de la souris. Ainsi, ces nouveaux implants apportent les bénéfices des implants originaux tout en éliminant la plupart des inconvénients.

09 Physiologie circadienne des souris porteuses d'une mutation d'un gène de l'horloge. Relations avec la croissance tumorale

**X.M. Li^(1,2), B. Claustrat⁽³⁾, M.H. Hastings⁽⁴⁾,
U. Albrecht⁽⁵⁾ & F. Lévi^(1,2)**

⁽¹⁾INSERM, E0354 "Chronothérapeutique des cancers", Villejuif ; ⁽²⁾Université Paris Sud, Villejuif ; ⁽³⁾Centre de médecine nucléaire, Hôpital Neurocardiologique, Lyon ; ⁽⁴⁾University of Cambridge, Cambridge ; ⁽⁵⁾University of Fribourg, Fribourg

Auteur correspondant : li@vjf.inserm.fr

La cancérogenèse chimio-induite ou la progression d'une tumeur greffée sont accélérées en cas de perturbation profonde du cycle activité-repos chez le rat ou la souris. Ces résultats indiquent que l'horloge circadienne de l'hôte ou certains de ses composants pourraient jouer un rôle suppresseur de tumeur. Nous étudions les conséquences de la mutation constitutive des gènes de l'horloge (Clock, Per1 et Per2) et du gène contrôlé par l'horloge (Vpac) sur la physiologie circadienne (activité-repos, température et corticostérone) et la croissance d'une tumeur greffée. Un capteur télémétrique de température et d'activité (Data Sciences) est implanté dans la cavité péritonéale pour enregistrer les deux variables pendant cinq semaines après la réception des animaux. Des souris Clock^{+/+}, Vpac^{-/-}, Per1/2^{-/-} ou sauvages

sont synchronisées par LD 12 :12 pendant deux semaines, puis restent en LD 12 :12 ou sont exposées en DD selon randomisation a priori. Deux semaines après la mise en DD, un fragment d'ostéosarcome de Glasgow (3 x 3 x 3 cm³) est inoculé par voie sous-cutanée dans chaque flanc. Les séries temporelles sont analysées par analyse spectrale. Le sang est prélevé pour dosage de corticostérone lorsque la tumeur atteint 10% du poids corporel.

En LD 12 :12, les rythmes circadiens de température corporelle et d'activité locomotrice sont stables, avec une période d'environ 24 h chez toutes les souris. Les acrophases des deux rythmes sont situées entre 14:20 et 21:45 Heures Après le Début de la Lumière (HADL). La mise en DD allonge immédiatement et durant toute l'expérience la période circadienne de ces deux rythmes à 28.5 h en moyenne chez les souris Clock^{19-/-}. De plus, l'amplitude de ces deux rythmes est augmentée de 45.9% (température, $p < 0.001$) et de 17.4% (activité, $p = 0.08$) par rapport à LD 12 :12. La corticostéronémie moyenne est diminuée de 41.2% chez les Clock^{19-/-} par rapport aux souris sauvages. Chez ces dernières, on retrouve un rythme circadien, avec un pic situé à 12 HADL en LD 12 :12 et à 4 HADL subjectif en DD. Par contre, ce rythme est supprimé ou très amorti chez les Clock^{19-/-} en LD 12:12 ou en DD. L'amélioration de la coordination circadienne et/ou l'allongement de la période circadienne observée chez les Clock^{19-/-} en DD est associée à un ralentissement modéré de la croissance tumorale. Bien que l'exposition en DD supprime les rythmes d'activité et de température chez les Vpac^{-/-}, aucune modification de la croissance tumorale n'est observée en comparaison des souris sauvages ou mutantes en LD 12:12. Dès l'exposition en DD, ces deux rythmes sont supprimés chez les Per1/2^{-/-}, alors qu'ils persistent avec une période d'environ 24 h chez les sauvages. Malheureusement, la tumeur est rejetée par le fonds génétique.

Des altérations majeures de la physiologie circadienne peuvent résulter d'interactions entre environnement photopériodique et mutation d'un gène horloge ou d'un gène contrôlé par l'horloge. Dans ces conditions, nous montrons que l'altération du phénotype circadien ne constitue pas le seul déterminant de la croissance d'une tumeur greffée.

10 L'analyse spectrale des séries temporelles

Jacques Beau

INSERM E0776, Rythmes biologiques et cancer, Hôpital Paul Brousse, Villejuif

Auteur correspondant : beau@vjf.inserm.fr

L'étude des rythmes biologiques est celle des séries temporelles, en effet aujourd'hui, d'une part le relevé des variables biologiques étudiées s'effectue sous forme de suites numériques mais

aussi, les traitements de ces suites sont réalisés par des logiciels qui traitent des données numériques. Le problème des logiciels est celui des systèmes complexes : si l'on fournit des entrées, il produit des sorties; reste au chercheur à appréhender la validité de ces sorties ; cette difficulté étant aggravée par l'aura de la prétendue puissance et infaillibilité de l'informatique.

Outre les études effectuées naturellement dans le domaine temporel, les rythmes biologiques sont classiquement explorés dans le domaine fréquentiel : l'analyse spectrale. Ce type d'exploration permet de déterminer, en particulier, la période propre du rythme. Il permet également d'effectuer des investigations préalables à d'autres traitements : filtrage ou recherche de composantes fréquentielles décorréliées, comme dans le cas des multi-oscillateurs. Cette technique est également utilisée pour caractériser un rythme circadien synchronisé et stationnaire. Enfin, en rapport avec l'aspect temporel, l'analyse spectrale donne des informations sur la répartition des composantes circadiennes, ultradiennes et parfois infradiennes.

Nous envisageons ici l'analyse spectrale dans son sens le plus large. Elle peut ainsi revêtir de nombreux aspects allant de la série de Fourier à l'analyse spectrale par fenêtre glissante en passant par l'outil classique de transformation de Fourier par FFT (Fast Fourier Transform).

Dans une première partie nous traiterons des rapports existants entre le mode de saisie, caractérisé par la fréquence d'échantillonnage et la durée de la fenêtre d'observation, avec la qualité de l'analyse effectuée. Nous y verrons que l'ajout de zéros est une technique qui permet une meilleure définition de la période lorsque la fréquence d'échantillonnage est trop faible. Un risque important de l'analyse spectrale simple est de "montrer" des composantes qui en fait n'existent pas, à cet égard l'utilisation de fenêtres de pondération permet de pallier ce problème, nous en montrerons les avantages et les inconvénients.

La relation entre la structure morphologique temporelle d'un rythme et son spectre sera détaillée à propos du problème de la "raie à 12 heures" ... qui parfois n'existe pas.

Le problème souvent évoqué de la mesure de la période circadienne est un problème très délicat qui revêt deux aspects selon que l'on se trouve en mode synchronisé ou non. Dans le premier cas on doit bien sûr trouver la période du synchroniseur or ce n'est pas toujours le cas.

Nous montrons pourquoi et quelles précautions doivent être prises afin d'éviter de fausses conclusions ; ces précautions explicitées nous serviront à définir un mode opératoire pour les analyses de signaux non synchronisés.

Nous terminerons par un aperçu de l'analyse par fenêtre glissante qui peut être parfois une excellente manière d'étudier l'évolution longitudinale d'un rythme lorsque l'on se trouve

dans un modèle d'étude : période préalable d'observation, action sur le sujet puis évolution du rythme après l'action. Dans le cas d'une chimiothérapie, par exemple, on peut aborder ainsi la notion de récupération du rythme à l'action de la chimiothérapie.

11 Contribution de l'analyse de la variabilité de la fréquence cardiaque dans l'étude de la réactivité émotionnelle chez la caille

D. Valance⁽¹⁾, G. Després⁽²⁾, P. Constantin⁽¹⁾ & C. Leterrier⁽¹⁾

⁽¹⁾Unités de Recherches Avicoles, INRA Centre de Tours ; ⁽²⁾ Unité de Recherches sur les Herbivores, INRA Centre de Theix

Auteur correspondant :
gaudinie@tours.inra.fr

Les oiseaux sont reconnus comme des animaux sensibles, c'est-à-dire capables de percevoir des émotions. Les réponses émotionnelles se caractérisent par une grande variabilité interindividuelle liée aux différences de réactivité émotionnelle qui existent entre les individus. Pour étudier le lien entre cette réactivité émotionnelle et les réponses comportementales et physiologiques chez l'oiseau, nous avons utilisé des cailles sélectionnées sur leur réponse à un test de peur, l'immobilité tonique (IT).

Deux lignées ont ainsi été sélectionnées, une à longue durée d'IT (LTI) et une à courte durée d'IT (STI). Entre ces deux lignées se situent les cailles de la lignée témoin (CTI). Ces cailles ont également été testées dans d'autres situations génératrices de peur et les données comportementales et endocriniennes suggèrent que les cailles STI à courte durée d'IT présentent une réactivité émotionnelle faible alors que les cailles LTI à longue durée d'IT présentent une réactivité émotionnelle élevée. Pour compléter ces données, l'activité du système nerveux autonome (SNA) a été évaluée grâce à l'analyse de la variabilité de la fréquence cardiaque (FC). En effet, l'activité cardiaque varie rapidement et nous permet d'obtenir une analyse cinétique fine de la réponse du SNA. De plus, grâce à la télémétrie, ces mesures peuvent être réalisées sans contention de l'animal.

Une première étude a eu pour but de voir si le fonctionnement cardiaque différait entre les lignées de cailles sélectionnées. Cette expérience nous a par ailleurs permis de valider notre méthode d'analyse des ECG. Différents tests pharmacologiques ont été réalisés et les résultats montrent que les cailles des différentes lignées sélectionnées sur la durée d'IT ont le même tonus intrinsèque mais des fonctionnements cardiaques différents, le tonus parasympathique prédominant chez les cailles les

moins réactives (STI) et les cailles témoins. Il semble ainsi que la sélection sur la durée d'IT est liée à des modifications du contrôle sympatho-vagal du cœur. Les différences de fonctionnement du SNA au repos entre les lignées suggèrent que le SNA fonctionnera également différemment en situation génératrice d'émotions.

Un stimulus sonore nous a permis d'étudier les réponses comportementales et cardiaques des cailles selon leur réactivité émotionnelle. Nous avons enregistré l'activité locomotrice fournie par l'implant de télémétrie ainsi que les ECG chez des cailles STI et LTI. L'analyse des données comportementales met en évidence une inhibition motrice identique dans les deux lignées de cailles sélectionnées. Par contre, le système nerveux sympathique est activé chez les deux lignées de cailles STI et LTI alors que le système nerveux parasympathique est activé seulement chez les cailles les moins réactives (STI). En conclusion, il semble que la réactivité émotionnelle module la réponse du SNA à un bruit et qu'elle soit liée à l'activité du SNA au repos.

En conclusion, l'analyse de la variabilité de la FC nous a permis de montrer qu'une sélection sur un critère comportemental peut être liée à des modifications du fonctionnement du SNA. Par ailleurs, ce type d'analyses permet d'obtenir des indications sur l'état émotionnel de l'animal que l'étude du comportement ne nous permet pas toujours de mettre en évidence.

12 Muscle cardiaque et myopathies : évaluation fonctionnelle cardiaque dans un modèle de hamster

Y.FH. Mongue-Din⁽¹⁾, A. Salmon⁽¹⁾, A. Serosé⁽¹⁾, C. Roques⁽¹⁾ & Y. Fromes^(1,2)

⁽¹⁾Institut de Myologie, INSERM U582, Paris ; ⁽²⁾Hôpital Saint Joseph, service de chirurgie cardiaque, Paris

Auteur correspondant :
y.fromes@myologie.chups.jussieu.fr

Dans le cadre des dystrophies musculaires, l'atteinte du muscle cardiaque est fréquente et en grande partie responsable de la mortalité de ces pathologies. La génétique a permis de mieux cerner l'origine héréditaire d'un grand nombre de myopathies, par contre nos connaissances en terme de physiopathologie restent insuffisantes. Ainsi, la question du développement du processus pathologique se pose et nous proposons d'étudier les aspects biologiques et physiopathologiques au cours du développement de l'atteinte cardiaque qui survient dans un certain nombre de myopathies. Actuellement, nous utilisons un modèle animal, le hamster myopathe CHF147, déficient en delta-sarcoglycane et qui développe une

cardiomyopathie progressant vers l'insuffisance cardiaque. Alors que l'origine génétique est clairement établie, on connaît mal les modifications moléculaires qui aboutissent à l'altération fonctionnelle du myocarde. Les cardiomyopathies peuvent, non seulement être la conséquence d'un défaut au niveau d'un ou plusieurs gènes du cytosquelette (la dystrophine, par exemple), mais elles peuvent être causées par des altérations de la perfusion musculaire (altérations des fonctions vasculaires) ou par un dysfonctionnement neuro-hormonal.

Les hamsters cardiomyopathes CHF147, déficients en delta-sarcoglycane développent une myopathie associée à une cardiomyopathie dilatée progressant vers l'insuffisance cardiaque et meurent prématurément des suites de cette atteinte cardiaque. Les signes cliniques associés aux atteintes cardiaques dans les sarcoglycanopathies sont ceux d'une cardiopathie dilatée et de l'insuffisance cardiaque.

Nous avons étudié l'activité électrique cardiaque et sa régulation par le système nerveux autonome, grâce à des enregistrements téléométriques et l'analyse de la variabilité du rythme cardiaque à partir de ces enregistrements électrocardiographiques.

Nous avons ainsi pu montrer que des anomalies de rythme sont détectables avant l'apparition des signes d'insuffisance cardiaque. Les mécanismes physiopathologiques sous-jacents à ces altérations de la variabilité du rythme sont en relation avec des anomalies de la régulation de l'activité cardiaque par le système neurovégétatif et en particulier, de la signalisation bêtaadrénergique cardiaque.

13 Enregistrement par télémetrie des paramètres physiologiques du marmouset (*Callithrix jacchus*)

Kamil Nahas

Pfizer Global Research & Development, Amboise.

Auteur correspondant :
kamil.nahas@pfizer.com

La télémetrie permet l'enregistrement en continu des paramètres physiologiques. Elle est reconnue comme l'outil permettant l'évaluation des effets cardiotoxiques et en particulier la prolongation de l'intervalle QT et les changements hémodynamiques.

Le marmouset (*Callithrix jacchus*) est un petit primate non humain du nouveau monde. Il est utilisé en toxicologie en tant qu'une espèce non rongeur. L'utilisation du marmouset dans l'évaluation des paramètres cardiovasculaires peut être une option appropriée quand l'utilisation du chien est exclue pour des raisons

des différences métaboliques. Si le macaque et le marmouset sont les options restantes, le marmouset est l'espèce de choix compte tenu de sa petite taille, la sécurité liée à la manipulation, le coût et la considération éthique.

Nous avons développé l'utilisation de la télémetrie chez le marmouset et nous avons caractérisé les paramètres physiologiques de ce dernier : fréquence cardiaque (FC), intervalle QT, pression artérielle, température et activité. Les matériels et méthodes ainsi que les résultats et la limitation de la méthodologie seront décrits.

Les variations circadiennes sont très marquées, notamment pour la FC, la température et l'activité pour lesquelles les valeurs sont plus élevées pendant la phase diurne.

La FC varie entre 175 et 250 bpm durant la journée et autour de 150 bpm pendant la phase nocturne. Pour l'électrocardiogramme, les ondes sont bien distinctes à des fréquences jusqu'à 320 bpm, mais à partir de 350 bpm, il y a superposition de l'onde P et l'onde T rendant l'analyse difficile.

Pendant les périodes de présence des techniciens (traitement, nourriture, observations cliniques) les animaux ont des paramètres physiologiques plus élevés et le signal peut être perturbé.

14 Le marmouset modèle pour la prolongation de l'intervalle QT

Kamil Nahas

Pfizer Global Research & Development, Amboise

Auteur correspondant :
kamil.nahas@pfizer.com

Le marmouset est une des espèces "non rongeur" utilisées en toxicologie. Actuellement, il n'y a pas de méthodologie permettant l'évaluation des paramètres cardiovasculaires chez cette espèce. La télémetrie qui a été reconnue par la Conférence Internationale sur l'Harmonisation (ICH S7B) comme l'outil du choix pour l'évaluation des effets cardiotoxiques et en particulier la prolongation de l'intervalle QT, peut constituer une alternative.

Afin de prouver que le marmouset est un modèle approprié pour l'évaluation des effets sur le QT, nous avons réalisé des études avec des produits de référence, connus pour prolonger l'intervalle QT chez l'homme. Nous avons testé un produit bloquant les canaux potassiums (Ikr) : le dofetilide, un produit qui bloque les canaux potassiums et sodium : le cisapride, un produit connu pour prolonger l'intervalle QT chez l'homme sans induire de torsade de points : la moxifloxacine. Ces trois produits ont été testés également chez le chien dans notre laboratoire, ce qui a permis une comparaison entre les modèles.

Les trois produits ont induit une prolongation de l'intervalle QT dès que les concentrations plasmatiques ont atteint le niveau de la concentration thérapeutique efficace chez l'homme (ETPC). Avec le dofetilide, la prolongation était de 40 msec pour un Cmax de 2 ng/ml (chez le chien 20 msec avec un Cmax de 4 ng/ml ; ETCP 0.5 ng/ml). Pour le cisapride, une prolongation de 15-25 msec a été induite à un Cmax d'environ 50 nM (idem chez le chien ; ETPC 2.6-4.9 nM). Avec la moxifloxacine, la prolongation était de 15 msec à un Cmax de (chez le chien 25 msec à 5000 ng/ml ; ETPC 1800 ng/ml).

15 Utilisation d'un système de répéteur permettant l'hébergement de chiens en groupes et en box de grandes dimensions

E.Martel⁽¹⁾, P.Lala⁽¹⁾, T. Bourbon⁽¹⁾, C. Roubinet⁽¹⁾, E.Rieux⁽²⁾ & D.Singer⁽²⁾

⁽¹⁾CERB, Département Pharmacologie cardiorespiratoire et électrophysiologie, Baugy ;

⁽²⁾Data Sciences, USA

Auteur correspondant: eric.martel@cerb.fr

L'évolution des normes de stabulation des animaux de laboratoire requiert notamment pour le chien un hébergement en groupe pour faciliter les interactions sociales entre individus. Dans le cas d'études au long cours utilisant la télémetrie comme principe de mesure, il n'était pas possible à ce jour de réaliser des mesures dans de telles conditions, car pour des raisons techniques il n'était pas possible de discriminer les signaux émis par deux implants distincts.

Afin de palier à cette situation, DSI a développé pour les gros animaux (chien, macaque) un système de répéteur externe. Chaque animal est équipé d'un répéteur porté sur un collier (ou dans un harnais) destiné à réceptionner le signal émis par l'implant de l'animal pour ensuite le transmettre à une fréquence spécifique à destination d'un récepteur situé dans l'animalerie. Ce système autorise l'usage d'au maximum quatre fréquences. Pour valider le concept de ce système et pour en définir les conditions d'application, une version bêta a fait l'objet d'une série de tests réalisés dans le cadre d'une acquisition du signal de pression artérielle (PA) et de l'électrocardiogramme (ECG). Ces tests ont eu pour but d'identifier le meilleur positionnement de l'implant sur l'animal et du répéteur. De plus, une série de tests a été réalisée pour vérifier dans différentes configurations la fiabilité des mesures effectuées. Les critères d'évaluation retenus pour apprécier cette fiabilité étaient l'absence d'interférences ou de perte de signal.

Jamais il n'a été observé d'interférence telle que le signal d'un autre animal ait été enregistré. Les principales interférences observées sont caractérisées par des ondes de grande amplitude et fréquence élevée induisant un parasitage du signal. En positionnant le corps de l'émetteur au niveau cervical plutôt qu'abdominal le nombre d'interférences est clairement réduit. Lorsque 4 animaux équipés d'un répéteur de fréquence différente sont stabulés individuellement en box dans une même pièce, pratiquement aucune interférence n'est observée. Au contraire, lorsque les animaux sont stabulés dans un même box avec des répéteurs de fréquence différente, des interférences sont relevées. Une fois le collier cervical lesté, afin de maintenir le répéteur en position dorsale, près du corps de l'émetteur implanté, les interférences entre répéteurs de fréquence différente sont fortement réduites.

Par ailleurs, une série de tests avec des répéteurs de même fréquence a été effectuée pour déterminer la possibilité d'utiliser deux jeux de quatre fréquences différentes, pour un hébergement total de 8 animaux dans une même pièce. Des interférences ont été observées. Une réduction de la portée des récepteurs devrait pouvoir prévenir ces interférences.

Par conséquent, les résultats obtenus indiquent que dans cette version bêta, le système permet d'enregistrer la PA et l'ECG sur des animaux stabulés en box séparément dans une même pièce, mais pas pour des groupes d'animaux stabulés dans un box commun. Sur la base de ces résultats un certain nombre d'améliorations ont été suggérées et apportées à la version finale du système de répéteur afin de prévenir ce phénomène.

16 Revue des procédures d'utilisation des transmetteurs DSI, et avancements techniques chez DSI

E. Rieux & A. Vadnais

Data Sciences International, St. Paul, MN, États-Unis

Auteur correspondant : erieux@datasci.com

En première partie, nous ferons un rappel des procédures essentielles à suivre lors de l'utilisation des transmetteurs implantables DSI : contrôle de l'état marche/arrêt lors de la réception ; contrôle du zéro de pression pour les transmetteurs mesurant la pression ; établissement d'une fiche de suivi d'utilisation de batterie ; réutilisation des transmetteurs pour les rongeurs (nettoyage, stérilisation, et préparation de cathéter et électrodes), et enfin procédure de renvoi pour échange-reconditionnement.

Nous présenterons ensuite les récentes évolutions techniques chez DSI.

En premier lieu, sera présenté un nouveau système de répéteur permettant de faire des enregistrements sur les grands animaux (chiens, primates, etc.), hébergés en groupes sociaux et en cage de grandes dimensions. Le système répéteur consiste en un boîtier externe de petite taille, porté sur un collier ou dans un harnais. Le répéteur reçoit le signal du transmetteur implanté sur l'animal, et le retransmet sur une distance plus grande, vers un récepteur placé à proximité de la cage d'hébergement. Les répéteurs utilisent des fréquences porteuses distinctes pour permettre un hébergement en groupe, et dans des box ou cages d'hébergement voisins.

Nous présenterons ensuite un nouveau type d'électrode permettant de mesurer des ECG intracardiaques. Ces électrodes peuvent se connecter à tout modèle de transmetteur DSI, et permettent d'obtenir des ECG de grande qualité, ce qui facilite l'analyse des temps de conduction. La dernière version du logiciel d'acquisition Dataquest ART (version 4.0) sera présentée. Cette version permettra de programmer des protocoles d'acquisition pour mieux répondre aux besoins de chaque étude et pour optimiser les quantités de données enregistrées. Les démarrages, les arrêts, les intervalles d'acquisition, et les modes d'acquisition (continu-aigu et séquentielchronique) pourront ainsi être programmés. Cette version possède aussi des nouveaux outils d'analyse, des nouvelles fonctions relatives aux B.P.L et signatures électroniques, et un nouveau module pour archiver facilement les données.

Communications affichées

17 Stabilité et reproductibilité des données hémodynamiques et électrophysiologiques chez le primate vigile téléométré

A.M. Béat⁽¹⁾, P. Lainée⁽¹⁾, G. Froget⁽¹⁾, M. Teillot⁽²⁾, C. Touvay⁽²⁾ & R. Forster⁽¹⁾

⁽¹⁾Département de Pharmacologie, CIT, Evreux; ⁽²⁾Groupe IPSEN, Les Ulis

Auteur correspondant :
pierre.lainee@citox.com

Les laboratoires produisent de plus en plus de composés de type protéines recombinantes ou anticorps spécifiques, pour lesquels le recours au primate non humain (PNH) devient scientifiquement incontournable. Cette tendance a également imposé l'utilisation des PNH en Pharmacologie de Sécurité (PHS) et plus spécialement dans les protocoles de téléométrie.

Les conditions expérimentales ont dû s'adapter à cette espèce afin de garantir la production de données fiables et reproductibles.

Ces deux composantes ont été vérifiées au cours d'une étude portant sur vingt animaux, évalués tous les trois jours, et ce à neuf reprises. Les valeurs initiales ont été suivies sur la période d'un mois et la cinétique d'effet du même placebo a été réalisée à deux reprises à un mois d'intervalle.

L'implantation des émetteurs (TL11-M2-D70-PCT, Data Sciences International) a été faite quatre à cinq semaines avant le premier enregistrement d'étude. Les valeurs initiales correspondent à la moyenne de trois mesures (15, 30 et 45 minutes avant administration) et le suivi des effets couvre une période de 12 heures.

Les paramètres évalués sont la fréquence cardiaque (FC), les pressions artérielles systolique (PAS), diastolique et moyenne, la température corporelle et les intervalles standards de l'ECG (PQ, QRS, QT). La pertinence des formules de correction de l'intervalle QT a été testée en comparant les formules de Bazett (QTb), Fridericia (QTf) et Van de Water (QTV), ainsi que l'utilisation d'une formule propre à chaque animal (QTI) obtenue par régression linéaire sur plus de 1000 paires RR-QT après administration du placebo.

L'analyse des valeurs initiales fait apparaître une variation progressive suggérant un effet de type "entraînement". Cet effet est visible à partir du quatrième passage pour la FC (de 187 à 162 bpm) et du deuxième pour la PAS (de 120 à 105 mmHg).

Dans la gamme de FC la plus observée chez le primate (100 à 200 bpm), les corrections de QT les plus stables sont obtenues avec le QTI et le QTb. Les coefficients de variations calculés sur les neuf mesures de base sont respectivement de 1.7, 3.4, 3.7 et 3.8% pour les QTI, QTb, QTV et QTf respectivement.

En conclusion, le possible effet "d'entraînement" doit être pris en compte en privilégiant la planification des traitements en "doses croisées" plutôt qu'en "doses croissantes", et/ou en incluant des contrôles sans produit à différents points des études. Par ailleurs, il convient d'optimiser les sources de variabilité comme la qualité des signaux, la maîtrise de l'environnement et l'utilisation des paramètres les plus reproductibles. Dans ce sens, la formule de correction de l'intervalle QT la plus performante chez les primates est celle de Bazett, à défaut de la mise en place d'une formule individuelle pour chaque animal, plus performante mais plus exigeante en terme d'analyse de signaux.

18 Enregistrement par télémétrie des paramètres physiologiques du marmouset (*Callithrix jacchus*)

S. Gatien, C. Gennetay, L. Lecompte, P. Leparoux, B. Naudin, S. Pommé & K. Nahas
Pfizer Global Research & Development, Amboise

Auteur correspondant :
Christophe.gennetay@pfizer.com

La télémétrie permet l'enregistrement en continu des paramètres physiologiques. Elle est reconnue comme l'outil permettant l'évaluation des effets cardiotoxiques et en particulier la prolongation de l'intervalle QT et les changements hémodynamiques.

Le marmouset (*Callithrix jacchus*) est un petit primate non humain du nouveau monde. Il est utilisé en toxicologie en tant qu'une espèce non rongeur. L'utilisation du marmouset dans l'évaluation des paramètres cardiovasculaires peut être une option appropriée quand l'utilisation du chien est exclue pour des raisons des différences métaboliques. Si le macaque et le marmouset sont les options restantes, le marmouset est l'espèce de choix compte tenu de sa petite taille, la sécurité liée à la manipulation, le coût et la considération éthique.

Nous avons développé l'utilisation de la télémétrie chez le marmouset et nous avons caractérisé les paramètres physiologiques de ce dernier : fréquence cardiaque (FC), intervalle QT, pression artérielle, température et activité. Les matériels et méthodes ainsi que les résultats et la limitation de la méthodologie seront décrits.

Les variations circadiennes sont très marquées, notamment pour la FC, la température et l'activité pour lesquelles les valeurs sont plus élevées pendant la phase diurne.

La FC varie entre 175 et 250 bpm durant la journée et autour de 150 bpm pendant la phase nocturne. Pour l'électrocardiogramme, les ondes sont bien distinctes à des fréquences jusqu'à 320 bpm, mais à partir de 350 bpm, il y a superposition de l'onde P et l'onde T rendant l'analyse difficile.

Pendant les périodes de présence des techniciens (traitement, nourriture, observations cliniques) les animaux ont des paramètres physiologiques plus élevés et le signal peut être perturbé.

19 Enregistrement électroencéphalographique continu par télémétrie chez le primate non humain

I. Ghorayeb⁽¹⁾, C. Forni⁽²⁾, E. Balzamo⁽²⁾, B. Bioulac⁽¹⁾ & F. Tison⁽¹⁾

⁽¹⁾Laboratoire de Neurophysiologie, CNRS-UMR 5543, Université Bordeaux 2 ;

⁽²⁾Laboratoire Interactions Cellulaires, Neurodégénérescence et Neuroplasticité, UMR 6186, Marseille

Auteur correspondant :
imad.ghorayeb@u-bordeaux2.fr

L'analyse et l'interprétation des données électroencéphalographiques (EEG) obtenues chez l'animal expérimental ont souvent été biaisées et rendues difficiles par l'utilisation nécessaire de moyens de contention, réduisant ainsi considérablement la liberté de mouvement de l'animal enregistré et perturbant obligatoirement l'organisation de ses rythmes veille-sommeil. La miniaturisation des outils d'acquisition de l'activité EEG et l'utilisation de la télémétrie nous permettent aujourd'hui de s'affranchir de ces contraintes techniques.

Dans ce travail, nous rapportons les résultats de 4 semaines d'enregistrement EEG continu par télémétrie chez un singe rhésus (*Macaca mulatta*). Cette espèce étant considérée comme l'animal de laboratoire de choix pour les études de la neurophysiologie du sommeil.

Pour cet enregistrement, nous avons choisi d'implanter deux voies EEG et une voie pour les mouvements oculaires afin de pouvoir reconnaître les différents stades de sommeil. Ces voies étant reliées à un transmetteur également implantable permettant à l'animal de ne pas être manipulé et de vivre normalement dans sa cage de vie pendant toute la durée de l'enregistrement.

Dans cette étude préliminaire de faisabilité, les différents stades de sommeil (selon Rechtschaffen et Kales) ont pu être facilement identifiés chez l'animal implanté et, son architecture de sommeil est apparue d'une remarquable reproductibilité d'une nuit à l'autre. En tenant compte uniquement de l'analyse effectuée pendant toute la durée de l'extinction des lumières de l'animalerie (de 20h00 à 08h00), on note une prédominance de sommeil lent profond en première partie de nuit et une prédominance de sommeil paradoxal (SP) en deuxième partie de nuit, avec en moyenne 31 % de stade 2, 24 % de stades 3 et 4, 17% de SP et une efficacité de sommeil de 81 %.

Bien que ne permettant d'utiliser qu'un maximum de 3 voies, cette technique nous permet d'enregistrer l'activité EEG sur de très longues durées, en particulier chez le primate non-humain dont l'organisation des rythmes veille-sommeil et l'architecture de sommeil sont beaucoup plus proches de celles de l'homme que ne le sont celles du rongeur. Ceci nous permettra d'aborder, au plus près de la pathologie humaine, la physiopathologie des troubles du sommeil et de la somnolence diurne excessive.

Evaluation of QT interval in conscious guinea pigs. An experimental approach for preliminary screening and characterization of future drug candidates.

P. Hess, M. Rey, D. Wanner, B. Steiner, M. Clozel
 Actelion Pharmaceutical Ltd, Gewerbestrasse 16, 4123 Allschwil, Switzerland

INTRODUCTION

Many drugs prolong the QT interval of the electrocardiogram (ECG) and this can lead to a dangerous tachyarrhythmia called "torsade de pointes" and potentially to fatal ventricular fibrillation. The experimental approaches, aimed at early identification of this undesired property, require both cellular electrophysiological studies and in-vivo experiments.

Guinea pigs are excellent models for investigating because they have specific ion channels similar to man, they require only small amounts of test compound and develop "torsade de pointes" in response to pharmacological interventions. We developed a novel approach to evaluate QT changes after oral or peritoneal administration of drugs in conscious freely moving guinea pigs equipped with telemetry.

OBJECTIVE

The aim of the current work was to assess post surgical recovery of guinea pigs after implantation of DSI telemetry devices and to evaluate the effects on known drugs on Mean Arterial Blood Pressure (MAP) and ECG intervals in conscious freely moving guinea pigs. Social (non-blocker) was selected as a positive control and vehicle (control) as a negative control for QT prolongation in the validation process.

RESULTS

Of the 19 guinea pigs that underwent surgery, 13 were normal throughout the whole study period, one died during surgery, one died immediately post surgery and 4 were euthanized 24h post-surgery due to thrombus formation (fibrotic paralysis). In the surviving animals, body weight slightly decreased the first week after implantation, however a normal increase in body weight was observed two weeks after implantation of the telemetry devices.

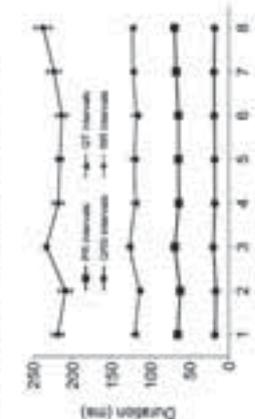


Fig. 1. ECG intervals did not change and were constant over time (at 3 weeks in control guinea pigs (n=3), all data are presented as mean ± SEM.

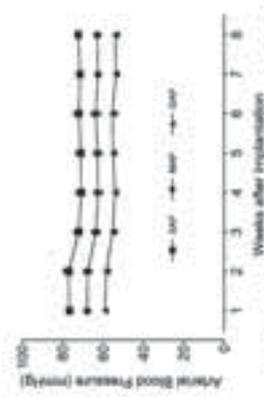


Fig. 2. Systemic arterial pressure (SAP), systemic arterial pressure (MAP), mean arterial pressure (MAP) were stable over time (at 3 weeks (n=6). The pulse pressure (SAP-MAP) was near 20 mmHg during the 8 weeks recording period. All data are presented as mean ± SEM.

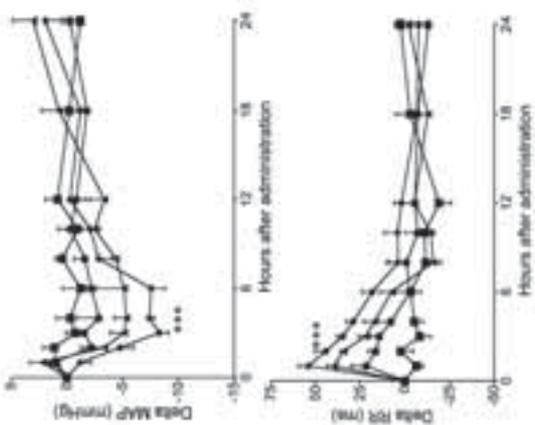


Fig. 3. Changes in MAP and ECG intervals in conscious guinea pigs after increasing doses of vehicle, human 10 mg/kg po-wk, human 30 mg/kg po-wk, human 100 mg/kg po-wk were the same in each experimental group (QTc and RR intervals were increased dose dependently). The maximal effect was observed one hour after dosing. All parameters went back to baseline 3 hours after dosing. All data are presented as mean ± SEM. *** p < 0.001 vs. vehicle alone.

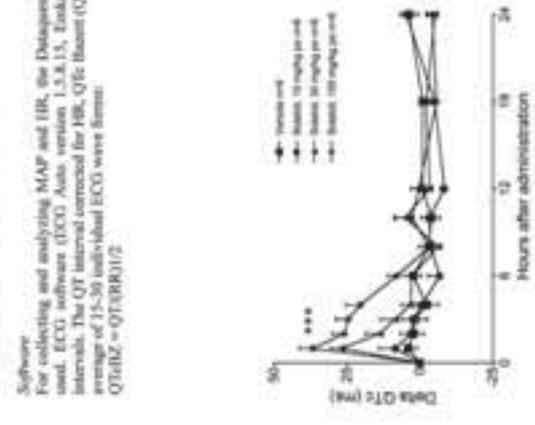


Fig. 4. Original recordings of arterial blood pressure and ECG intervals in a conscious guinea pig 5 months after implantation of the telemetry device.

MATERIALS & METHODS

In telemetry, data are collected from animals implanted with radio-transmitters. Data can be captured for extended periods of time following either single or multiple dose administration of test substance.

Implantation of C50-PXL transmitters

After an acclimatization period of 2 weeks, non-sedative male Dunkin Hartley guinea pigs (Harlan, Netherlands) weighing between 240 and 610g were anesthetized with isoflurane. The primary transmitter was implanted into the peritoneal cavity under aseptic conditions. The receiving subunit was placed in the descending aorta below the renal arteries, pointing upstream. The ECG electrodes were placed in lead II. The transmitter was returned to the abdominal musculature and the skin was closed.

Telemetry measurements

The Telemetric System used consists of the following hardware and software (DSI, St Paul, USA):

Hardware

- an implantable device
- receivers: RPC-1 receiver
- a data exchange matrix, DEM, which centralizes the signals from all animals
- an ambient pressure interface, API-1, which allows a barometric correction
- a micro-computer with acquisition card

Software

For collecting and analyzing MAP and HR, the Datapoint™ A.R.T.™ (Advanced Research Technology) software was used. ECG software (ECG Auto version 1.5.8.15, Endka Technologies, Paris, France) was utilized to measure ECG intervals. The QT interval corrected for HR, QTc (ms) was calculated using the following formula based on the average of 15-30 individual ECG wave forms: QTc (ms) = QT (ms) / sqrt (HR).

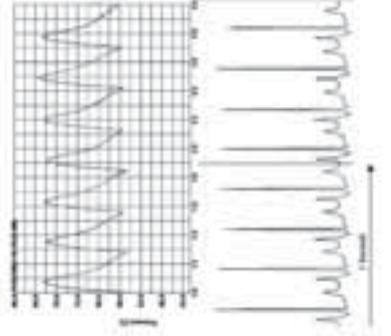


Fig. 4. Original recordings of arterial blood pressure and ECG intervals in a conscious guinea pig 5 months after implantation of the telemetry device.

CONCLUSION

In conclusion, conscious guinea pigs implanted with a telemetry device are able to predict drug induced QT prolongation and can be used as a good experimental model for preliminary screening and characterization of potential drug candidates. Additional drugs need to be tested to further validate this experimental approach.

21 Intérêt de la télémétrie dans un modèle de souris en bloc atrioventriculaire complet

A-L. Leoni, K. Le Quang, J. Piron, O. Bignolais, S. Demolombe, F. Charpentier & D. Escande

IINSERM U 533, Institut du Thorax, Nantes

Auteur correspondant :

anne-laure.leoni@nantes.inserm.fr

De nombreuses espèces animales ont été utilisées pour développer des modèles animaux en bloc atrioventriculaire avec des objectifs expérimentaux variés (modèle pro-arrhythmique, modèle d'insuffisance cardiaque...).

Jusqu'à récemment aucun modèle murin n'existait. Nous avons mis au point un modèle de souris en bloc atrioventriculaire complet obtenu par ablation du faisceau de His par radiofréquence. Ce modèle est utilisé d'une part pour étudier les mécanismes de l'hypertrophie et du remodelage électrique consécutifs au bloc atrioventriculaire, et d'autre part pour évaluer l'efficacité de pacemakers biologiques ventriculaires.

Nous avons implanté (TA10EA-F20, Data Sciences International) des souris CD1 mâles au minimum 5 jours avant la réalisation de l'ablation du faisceau de His par radiofréquence.

L'enregistrement en continu de l'ECG en dérivation DII par la technique de télémétrie nous a permis d'identifier la survenue spontanée et précoce (12 h après ablation) de troubles du rythme ventriculaire sévères du type Torsades de pointe chez 67% des animaux (6 souris sur 9). Ces troubles du rythme se maintenaient au-delà des 12h et étaient corrélés à des modifications d'expression de plusieurs canaux ioniques appartenant aux familles des canaux potassiques, sodiques ou encore calciques.

Nous prévoyons de répéter ces expériences sur différents modèles de souris transgéniques invalidées ou surexprimant des sous-unités de canaux ioniques impliqués dans la repolarisation cardiaque afin d'évaluer leur implication dans le remodelage cardiaque et la survenue des troubles du rythme ventriculaire observés.

Pour évaluer l'efficacité de nouveaux pacemakers biologiques, un sous groupe d'animaux a subi au moment de l'implantation du capteur de télémétrie une thoracotomie gauche permettant d'injecter dans le myocarde ventriculaire un mélange comprenant un vecteur non-viral et des plasmides codant pour les gènes du canal pacemaker Hcn2 et du récepteur β_2 -adrénergique (souris Hcn2). Les animaux témoins (souris Sham) recevaient le vecteur et des plasmides non-codant.

Quinze jours après l'ablation du faisceau de His, le rythme d'échappement ventriculaire était significativement plus rapide chez les souris Hcn2 par rapport aux souris Sham (intervalle RR plus long de 106-170 ms ; 23-32 % chez les Sham). La survie des souris Hcn2 était améliorée, 50 % des souris Sham étaient décédées à 75 jours tandis que ce niveau n'était atteint qu'à 120 jours pour les souris Hcn2. Enfin, l'enregistrement continu

de l'ECG nous a permis de constater que le rythme nyctéméral était conservé dans les deux groupes de souris et que le transfert de gène n'avait aucun effet significatif sur la survenue des troubles du rythme ventriculaire.

22 Modulation neuropeptidergique de peur et anxiété au niveau de l'amygdale centrale

D. Viviani⁽¹⁾, P. Poisbeau⁽²⁾ & R. Stoop⁽¹⁾

⁽¹⁾ Centre de Neurosciences Psychiatriques, Université de Lausanne ;

⁽²⁾ Institut des Neurosc. Cellulaires et Intégratives, Université Louis Pasteur, Strasbourg.

Les patients souffrant de troubles de l'anxiété ne l'expriment pas toujours de la même façon ; dans certains cas, ce sont les paramètres cardiaques (pression sanguine ou rythme cardiaque) qui sont principalement affectés, dans d'autres cas, la respiration.

L'amygdale joue un rôle primordial dans le déclenchement et la modulation de ces réactions. Elle est également très dense en récepteurs et envoie des projections vers les noyaux du tronc cérébral, responsables de la modulation des différents paramètres physiologiques. Récemment nous avons publié comment deux neuropeptides, l'ocytocine (OXT) et la vasopressine (AVP), peuvent moduler de façon opposée les réactions de la peur grâce à leurs effets au niveau de l'amygdale centrale (Huber et al., Science 2005).

Ce que nous voulons maintenant comprendre c'est d'abord où est-ce que les neurones qui sont modulés par OXT et AVP projettent. Ensuite, on veut déterminer si on peut trouver des populations neuronales qui sont sélectivement modulées par différents neuropeptides, quels sont les paramètres physiologiques affectés par les différents neuropeptides ainsi que les mécanismes et les circuits qui sont à la base de ces modulations.

Pour répondre à ces questions, nous proposons d'utiliser une approche qui combine enregistrements patch-clamp *in vitro* sur des projections identifiées par traçage rétrograde, et injections de neuropeptides *in vivo* couplées à des enregistrements télémétriques et tests comportementaux. La partie *in vivo* nous permet d'évaluer les effets des neuropeptides au niveau de l'amygdale centrale tandis que la partie *in vitro* nous permet de déterminer s'il y a des populations neuronales qui projettent sélectivement vers des noyaux du tronc cérébral et comment elles sont modulées par les différents neuropeptides.

Les résultats préliminaires ont montré qu'il y a des réactions opposées de OXT et AVP sur les projections vers la substance grise périaqueducule. Les effets de DAGO, galanin, CRF, Neuropeptide S et orexine A sont en train d'être testés. Les enregistrements télémétriques sont en phase de développement mais les premières implantations ont donné des bonnes traces de base.



Aider la recherche à répondre au défi mondial

L'introduction des aliments "Harlan Global Diets" formulés scientifiquement offre à la communauté de recherche internationale à la fois l'uniformité et la commodité.

- Fabrication en Europe et aux Etats-Unis
- Nom de produit identique
- Numéro de produit identique
- Ingrédients et formules identiques
- Aliments confirmés

Les aliments "Harlan Global" ne permettent pas seulement une standardisation mondiale mais également des communications inter compagnies simplifiées pour notre clientèle mondiale.

Harlan Teklad offre une ligne d'aliments complète pour toutes les espèces aussi bien autoclavable, qu'irradiée et certifiée.

Harlan
FRANCE

*Aider la recherche à répondre
au défi mondial*

Harlan France

Z.I. Le Malcourlet

R.N. 9

B.P. 98

03800 GANNAT

FRANCE

Tel.: (33) 04.70.90.02.20

Fax: (33) 04.70.90.68.08

Internet: www.harlan.com

E-mail: harlanfrance@harlan.com

E-mail service clientèle: HfrServiceClientele@harlan.com



**L'uniformité est maintenant sur une seule page.
Celle-ci.**

Un objectif de recherche de longue date qui est maintenant devenu réalité. Une source fiable procure trois services essentiels avec une uniformité mondiale. Harlan fournit des animaux de laboratoire, aliments et litière identiques où et quand votre recherche le demande.

L'uniformité a toujours été simple en théorie, mais seul Harlan l'a réalisée en pratique.

Harlan
FRANCE

Aider la recherche à répondre au défi mondial

Z.I. Le Malcourlet
R.N. 9
B.P. 98
03800 GANNAT
FRANCE

Tel: (33) 04.70.90.02.20

Fax: (33) 04.70.90.68.08

Internet: www.harlan.com

E-mail: harlanfrance@harlan.com

E-mail service clientèle: HfrServiceClientele@harlan.com



SOURIS:

Non consanguines
Consanguines
Hybrides
Mutantes
Congéniques
Transgéniques



LAPINS:

Albinos New Zealand
Dutch

**Chacun d'eux
pourrait être la clé.**

Harlan fournit plus de souches et lignées à la recherche biomédicale que n'importe quel autre producteur commercial dans le monde. Neuf espèces et plus de 225 souches et lignées sont produites dans huit pays. Nous fournissons les animaux qui sont importants pour votre recherche.



RATS:

Non consanguins
Consanguins
Agés
Hybrides
Mutants
Congéniques



COBAYES

D'autres modèles sont disponibles y compris des rongeurs et lapines gestantes avec date- Nous appeler pour de plus amples informations.

COLONIES DE BEAGLES:

Royaume Uni
Etats-Unis
France
Allemagne
Pays-Bas



**Harlan
FRANCE**

*Aider la recherche à
répondre au défi mondial*

Harlan France
Z.I. Le Malcourlet
R.N. 9
B.P. 98
03800 GANNAT
FRANCE

Tel: (33) 04.70.90.02.20

Fax: (33) 04.70.90.68.08

Internet: www.harlan.com

E-mail: harlanfrance@harlan.com

E-mail service clientèle: HRServiceClientele@harlan.com

Un Original Américain. Un Standard International.

*Produit et élevé dans 8 pays sur 3 continents,
le précurseur de tous les rats de laboratoire
albinos non consanguins répond au défi de la
standardisation internationale.*

Dans n'importe quel pays, le "Sprague
Dawley" original, "Hsd:Sprague Dawley® SD®",
conserve les caractéristiques qui l'ont rendu
célèbre. Dans n'importe quelle langue,
"Sprague Dawley" signifie qualité
mondialement uniforme.

Harlan

FRANCE

*Aider la recherche à
répondre au défi mondial*

Harlan France

Z.I. Le Malcourlet

R.N. 9

B.P. 98

03800 GANNAT

FRANCE

Tel.: (33) 04.70.90.02.20

Fax: (33) 04.70.90.68.08

Internet: www.harlan.com

E-mail: harlanfrance@harlan.com

E-mail service clientèle: HfrServiceClientele@harlan.com



Enregistrements téléométriques de longue durée et méthodes de traitement du signal adaptées : application à l'enregistrement de l'activité contractile de l'utérus

J. Terrien⁽¹⁾, C. Marque⁽¹⁾, G. Germain⁽²⁾

⁽¹⁾ UMR CNRS 6600, Biomécanique et Génie Biomédical, Université de Technologie de Compiègne, BP20529, F-60206 Compiègne Cedex, France

⁽²⁾ INRA, UMR 1198; ENVA; CNRS, FRE 2857, Biologie du Développement et Reproduction, Jouy en Josas, F-78350, France

Auteur correspondant : jterrien@utc.fr

Liste d'abréviations : CT : Contraction - EHG : Electrohystérogramme - FWH : Fast Wave High - FWL : Fast Wave Low - NP : Non Placentaire - P : Placentaire - PIU : Pression intra utérine - RTF : Représentation Temps-Fréquence - SEA : Spectre d'Energie Absolue - SER : Spectre d'Energie Relative - SP : Spectre de Puissance

Introduction

L'activité contractile de l'utérus est généralement mesurée par tocographie externe ou par enregistrement de la pression intra utérine (PIU). De nombreuses études montrent que l'activité électrique générée par l'utérus, l'électromyogramme utérin ou électrohystérogramme (EHG), permet aussi le suivi et l'analyse de la contractilité utérine (Devedeux et al. 1993; Buhimschi and Garfield 1996; Garfield, et al. 1998; Leman et al. 1999; Garfield et al. 2001). L'EHG est principalement composé de deux composantes fréquentielles : FWH (Fast Wave High) et FWL (Fast Wave Low). FWH serait reliée à l'excitabilité cellulaire de l'utérus. FWL, serait quant à elle, reliée à la propagation de l'activité électrique de l'utérus (Devedeux et al. 1993).

Chez l'animal, les enregistrements téléométriques de la PIU et de l'EHG permettent un suivi de la contractilité utérine pendant toute la gestation, mais imposent cependant certaines contraintes méthodologiques, tant dans l'acquisition que dans le traitement des données. Nous détaillons, dans cet article, les solutions que nous avons utilisées afin de prendre en compte ces contraintes mais aussi les différentes études que nous avons ainsi pu réaliser.

Matériels et méthodes

1) Protocoles expérimentaux

Pour l'étude de la contractilité utérine chez le macaque *cynomolgus* grévise (*Macaca fascicularis*), nous utilisons un capteur téléométrique (TL11M3-D70-CCP, Data Sciences International) à deux voies électromyographiques, une positionnée en zone placentaire (EHGP), l'autre en zone non placentaire (EHGNP), et un capteur de pression. L'implantation du capteur est réalisée à 120 jours de gestation de la guenon, anesthésiée par voie intramusculaire (Ketalar 10 mg/kg et demi-dose réinjectée à la demande, Parke Davis, France). Un traitement tocolytique (Salbutamol, dose initiale 20 µg/kg IM 3 fois par jour x 5 jours, Glaxo Wellcome, France) et anti-inflammatoire (Voltarène injectable, IM dose initiale 1,5 mg/kg/jour x 5 jours, Novartis Pharma, France) est administré en post-opératoire. Les concentrations de ces différents agents sont diminuées

Résumé

Nous présentons les apports de l'utilisation de la téléométrie dans l'enregistrement et l'analyse de l'activité contractile de l'utérus, durant toute la gestation, chez un modèle animal : le macaque *cynomolgus* grévise. Une étude des contraintes tant expérimentales que méthodologiques, de ce type d'enregistrement de longue durée est présentée, ainsi que plusieurs solutions que nous avons pu utiliser avec succès afin de nous en affranchir. Par l'utilisation de plusieurs méthodes de traitement du signal, notamment temps-fréquence, nous avons pu augmenter les connaissances scientifiques sur la contractilité utérine au cours de la gestation. La majeure partie de nos résultats peut être facilement transférée dans le milieu obstétrical ou industriel pour un meilleur suivi de l'activité contractile de l'utérus chez la femme.

Mots clés : Contractilité utérine, Electrohystérogramme, Représentation temps-fréquence, Rythme circadien, Accouchement prématuré, Tocolyse.

Abstract

Long term telemetric recordings and adapted signal processing methods: application to the recording of the uterine electrical activity

We present the benefits of using telemetric recordings of the uterine contractile activity and its analysis, during the entire gestation, in an animal model: the pregnant *cynomolgus* monkey. A study of the experimental, as well as methodological constraints of this type of long term recordings is discussed. We also propose several solutions, that we have employed with success, in order to encompass them. By using some processing methods, like time-frequency representation, we have been able to improve the scientific knowledge on the uterine contractility during gestation. Our results could be easily transferred in the obstetrical or industrial domain, for a better analysis or management of the contractile activity of the uterus in pregnant women.

Key words: Uterine contractility, Electrohysterogram, Time-frequency representation, Circadian rhythm, premature labor, Tocolysis.

progressivement de 20% chaque jour jusqu'au rétablissement de l'animal. Les enregistrements sont ensuite réalisés en continu jusqu'à la parturition. La fréquence maximale de l'EHG, enregistré en interne chez la guenon, est de l'ordre de 7 à 8 Hz (Devedeux et al. 1993). Nous avons donc choisi une fréquence d'échantillonnage pour chacune des voies de 50 Hz afin de respecter le théorème d'échantillonnage de Shannon et de disposer d'une bonne résolution fréquentielle.

2) Analyses de l'électromyogramme et de la pression intra-utérine

Les principales composantes spectrales de l'EHG, FWL et FWH, portent chacune une information particulière sur la contractilité utérine. Il est donc important d'étudier ce signal dans le domaine fréquentiel afin de pouvoir distinguer l'information portant sur l'excitabilité et celle sur la propagation. L'électromyogramme utérin est un signal non stationnaire, ses caractéristiques statistiques varient en fonction du temps. Il est donc incorrect d'utiliser une analyse de Fourier classique. La méthode d'analyse fréquentielle que nous avons retenue est l'analyse temps-fréquence. Ce type d'analyse permet de distinguer pour chacun des instants donnés du signal, la répartition énergétique instantanée de celui-ci dans chacune des fréquences possibles. La méthode temps-fréquence la mieux adaptée à l'EHG interne de macaque est la modélisation auto-régressive (modèle auto-régressif d'ordre 30 calculé sur une durée de 6 secondes) (Devedeux 1995).

L'analyse des représentations temps-fréquence (RTF) est parfois difficile. Nous avons donc utilisé deux approches afin de la simplifier. La première consiste en la simple intégration temporelle de la RTF (SEA, Spectre d'Énergie Absolue), ou normalisée par la durée de la contraction utérine (SP, Spectre de Puissance) ou de son énergie totale (SER, Spectre d'Énergie Relative). Nous avons, dans chacune des situations physiologiques d'intérêt, suivi les caractéristiques de FWH et FWL. Nous avons aussi extrait les différents maxima énergétiques locaux du plan temps-fréquence. Une succession temporelle et fréquentielle de maxima locaux forme alors une arête de forte énergie appelée ridge (Figure 1). Nous avons pu développer une méthode automatique d'extraction des arêtes de plus forte énergie présentant des performances supérieures à d'autres méthodes classiques du traitement du signal (Terrien et al. 2005a). Les deux arêtes correspondantes à FWL et FWH ont été ensuite paramétrées pour chacune des contractions. Nous avons ainsi calculé des paramètres comme la fréquence maximale, la

fréquence de l'énergie maximale ou l'énergie des arêtes.

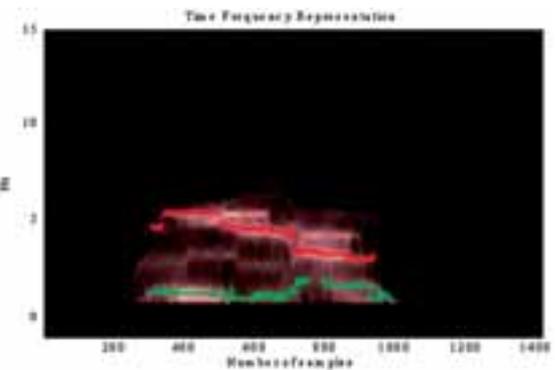


Figure 1 : Représentation temps-fréquence d'une contraction utérine et arêtes extraites (en rouge FWH et en vert pour FWL).

En ce qui concerne la PIU, les paramètres couramment utilisés dans la littérature sont l'amplitude maximale, la pente maximale ou l'énergie, par exemple. Cependant, le calcul précis d'une pente instantanée nécessite un signal très lisse. La courbe de PIU est souvent corrompue par du bruit haute fréquence. Nous avons donc, avant le calcul des différents paramètres, et notamment de la pente instantanée maximale, réalisé une modélisation polynomiale de cette courbe. L'ordre du modèle a été choisi individuellement par la minimisation de l'erreur quadratique de modélisation. Chacun des modèles obtenus a ensuite été validé visuellement et rejeté si la courbe obtenue ne conservait pas la forme générale de la courbe de PIU.

Résultats

1) Signaux recueillis

Malgré une fréquence d'échantillonnage relativement faible (50 Hz pour chacune des voies), les fichiers obtenus présentent une taille importante. En dépit d'une augmentation de la capacité de stockage des ordinateurs actuels, la principale difficulté concerne la mise en mémoire vive des signaux enregistrés. Pour des enregistrements de plusieurs jours, nous avons dû accroître la mémoire vive de nos stations de travail, notamment en ce qui concerne le traitement numérique.

Certaines femelles ont mis bas prématurément, probablement en raison du caractère invasif de la prise de pression sur des utérus fortement irritables. Nous avons pu diminuer le risque d'accouchement prématuré en suturant le cathéter de pression sur la paroi externe de l'utérus. Cette disposition permet de repérer les contractions (CT) mais augmente la sensibilité aux artefacts de mouvement de l'animal.

Les signaux d'EHG présentait toujours un excellent rapport signal/bruit (Figure 2) tout au long des enregistrements. Par contre, nous avons observé, de manière plus ou moins marquée avec le temps, une internalisation des électrodes dans l'épaisseur de la paroi utérine. L'augmentation de l'impédance inter-électrode aboutit dans ce cas à une diminution de l'amplitude des signaux avec l'avancée du terme, ce qui peut fausser les interprétations physiologiques.

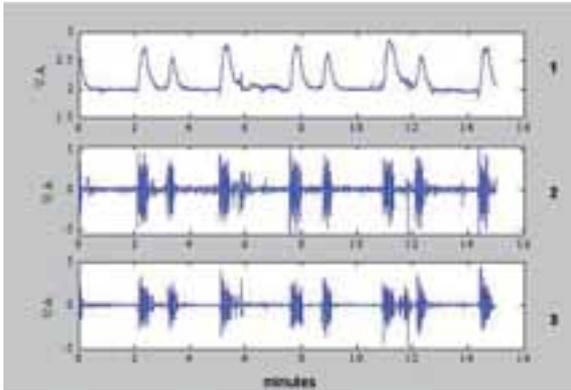


Figure 2 : Signaux (PIU 1, EHG non placentaire 2 et EHG placentaire 3) enregistrés chez le macaque pendant le travail

2) Etude de la contractilité utérine selon le terme de la gestation

D'un point de vue temporel, en début de gestation, les CT présentent généralement un caractère polyphasique et deviennent principalement monophasiques pendant le travail. Nous avons confirmé cette évolution sur la plupart des femelles étudiées. Cependant, pour une d'entre elles, nous avons observé, même pendant le travail prématuré, un grand nombre de CT polyphasiques. Nous avons montré, par l'analyse spectrale des bouffées d'EHG, que ces contractions présentaient une faible énergie de la composante FWL (moins bonne propagation) mais une composante FWH située dans les hautes fréquences (excitabilité importante) ce qui expliquerait l'efficacité du travail chez cet animal malgré une moins bonne propagation de l'activité utérine. L'analyse temporelle des signaux ne suffit pas au suivi de la contractilité utérine.

Dans cette étude, nous nous sommes donc principalement intéressés à l'évolution de la position fréquentielle de FWL et FWH ainsi qu'à l'énergie ou la puissance de ces composantes fréquentielles. En termes d'énergie absolue ou de puissance, nous n'avons pas observé d'évolution commune selon le terme des composantes FWH et FWL chez les différentes femelles. Pour certaines femelles, nous identifions une chute progressive de l'énergie ou de la puissance des CT quelle que soit la bande de fréquences considérée. Seule l'analyse en SER

nous a permis de mettre en évidence des évolutions communes à tous les animaux. Nous observons, en effet, un décalage continu de la fréquence de l'énergie maximale de FWH vers les hautes fréquences (Figure 3). Il semble qu'il y ait aussi une augmentation de l'énergie relative de FWH avec l'avancée du terme. Nous n'avons pas pu distinguer d'évolution fréquentielle ou énergétique commune de FWL avec le terme. Il existe aussi une différence de contenu spectral des EHG selon la position par rapport au placenta des électrodes de recueil. Nous avons pu observer principalement que la fréquence de l'énergie maximale de FWH se situe dans les plus basses fréquences pour les EHG enregistrés en zone d'insertion placentaire, qu'en zone non placentaire.

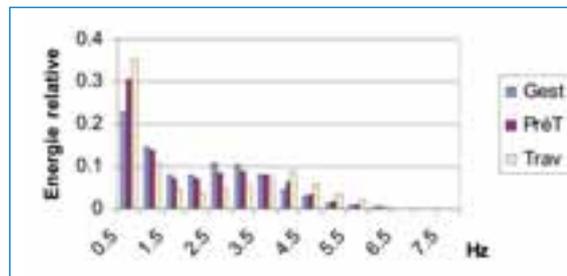


Figure 3 : Evolution du SER moyen d'une guenon au cours du terme (Gest, Gestation, PrêT, Pré-travail et Trav, Travail)

3) Etude des rythmes circadiens des caractéristiques de l'EHG

Bien que les évolutions des caractéristiques générales de chacune des composantes spectrales de l'EHG ne soient pas faciles à caractériser, il semble que certaines caractéristiques particulières de FWL et FWH sont influencées par l'avancée du terme (fréquence de l'énergie maximale, énergie absolue...). La contractilité utérine est principalement sous l'influence de l'environnement hormonal de la mère. Certaines hormones capables de modifier la contractilité utérine (progestérone, ocytocine...) sont connues pour présenter une rythmicité circadienne de leur production ou de leur libération dans la circulation générale (Walsh et al. 1984 ; Matsumoto et al. 1991 ; Hirst et al. 1993). Il est d'ailleurs établi que les CT présentent des caractéristiques temporelles qui évoluent de manière circadienne (Ducsay and McNutt 1989 ; Morgan et al. 1992 ; Carbonne et al. 1998). Nous nous sommes donc intéressés à l'étude des rythmes circadiens des caractéristiques spectrales de l'EHG.

Outre l'évolution au cours des 24 heures de certains paramètres temporels des CT, couramment décrits dans la littérature (nombre, durée, ...), nous montrons une évolution circadienne de nombreux paramètres fréquentiels et énergétiques issus aussi bien de FWH que de

FWL (fréquence maximale, énergie...). Certains paramètres, comme la bande passante de FWL, ne présentent pas de rythme identifiable. Nous avons pu montrer qu'il existe pour certains paramètres présentant un rythme circadien (énergie absolue de FWH, puissance de FWL...) une variation des caractéristiques du rythme en fonction de la position placentaire. Ces changements peuvent concerner aussi bien l'amplitude, le niveau moyen journalier que la phase du rythme (Figure 4).

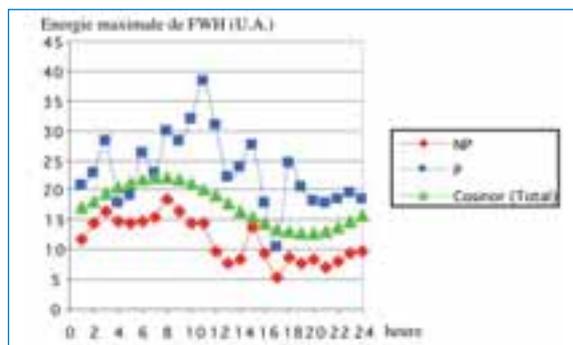


Figure 4 : Evolution journalière de l'énergie maximale de FWH des EHG enregistrés en position non placentaire (NP), placentaire (P) et modélisation COSINOR réalisée sur le groupement des EHG quelle que soit la position placentaire (Total)

4) Relation EHG/PIU

Nous avons étudié chez deux animaux, les relations qui existent entre les caractéristiques des EHG et la courbe de pression associée. Nous mettons en évidence un grand nombre de relations linéaires significatives entre FWH, FWL et la PIU, tous termes confondus. FWH présente un plus grand nombre de relations linéaires significatives que FWL. Cependant, il semble que chacune de ces composantes spectrales est associée à des caractéristiques particulières de la courbe de pression. En effet, FWH est principalement reliée à l'amplitude maximale de la PIU (Figure 5) alors que FWL est reliée à sa pente maximale (Figure 6). Les principales informations contenues dans l'EHG concernant la PIU sont l'énergie et la fréquence maximale de FWH et FWL.

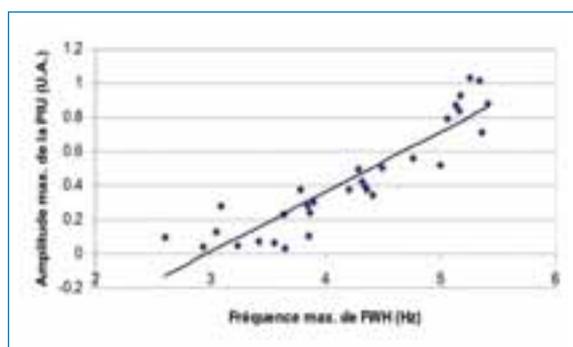


Figure 5 : Régression linéaire entre l'amplitude maximale de la PIU et la fréquence maximale de FWH ($R^2 = 0.834$, $P = 1\%$)

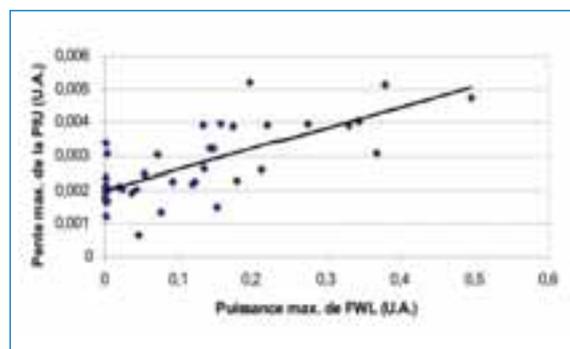


Figure 6 : Régression linéaire entre la pente maximale de la PIU et la puissance de FWL ($R^2 = 0.53$, $P = 1\%$)

Discussion

Nous avons été confrontés au problème de l'accouchement prématuré de certains animaux après l'implantation du capteur télémétrique. Comme l'ont montré nos résultats, l'analyse de certains paramètres, comme la fréquence de l'énergie maximale de FWH, aurait pu nous permettre d'anticiper le risque de mise bas prématurée et ainsi de poursuivre le traitement tocolytique préventif post-opératoire sur une plus longue période. Nous avons grandement diminué le risque d'avortement spontané par une suture du capteur de pression sur la paroi externe de l'utérus. Dans les situations étudiées, nous avons constaté une grande variation d'énergie des EHG, avec pour certaines femelles, une chute de l'énergie des bouffées d'activité avec l'avancée du terme. Ces différences pourraient être expliquées par les différences d'impédance inter-électrode entre chacune des voies ou une internalisation des électrodes dans la paroi de l'utérus, attestée lors du retrait des capteurs. Nous nous sommes affranchis de ces problèmes par l'analyse de l'énergie relative des spectres des EHG et une représentation temps-fréquence adaptée.

L'analyse du contenu fréquentiel des CT utérines au cours du terme a montré un décalage continu de la position fréquentielle de FWH vers les hautes fréquences (Terrien et al. 2003). Ce phénomène a été observé chez d'autres espèces animales comme le rat (Doret et al. 2005). Cette information pourrait être utilisée dans le cadre de la détection du risque d'accouchement prématuré chez la femme. Il s'agit en effet d'un problème de santé publique majeur en France et en Europe.

Notre étude a clairement mis en évidence un effet de la position du placenta sur les signaux recueillis. Il est donc important de prendre en compte cette information dans le cadre d'enregistrements non invasifs chez la femme, où le positionnement des électrodes se limite à la paroi abdominale de la femme.

L'utilisation conjointe d'enregistrements continus de longue durée et de méthodes de traitement du signal adaptées à l'analyse des contractions utérines, nous a aussi permis de mettre en évidence une rythmicité circadienne des caractéristiques spectrales de l'EHG (Terrien et al. 2005b). Nous avons pu montrer que l'efficacité maximale des CT se situe dans la phase nocturne ou tôt le matin. Il s'agit des périodes où il existe le plus grand nombre d'accouchements chez la femme. Durant cette période, le nombre de contractions est important et les EHG recueillis possèdent, de plus des caractéristiques spectrales suggérant, selon notre étude sur les relations EHG/PIU, une efficacité mécanique importante. Ces résultats ont des implications pharmaceutiques et thérapeutiques importantes. En effet, en routine, l'administration d'agent tocolytique est réalisée chez la femme le matin. Cependant, il s'agit de la période de la journée où les contractions utérines sont les moins importantes et apparemment les moins efficaces. Une administration en fin de journée semblerait plus adaptée afin de diminuer les CT nocturnes (nombreuses et efficaces). L'évaluation de nouveaux agents tocolytiques doit aussi prendre en compte ces rythmes circadiens. Il est important d'évaluer les effets de ces agents sur les caractéristiques spectrales des EHG et pas uniquement sur des paramètres temporels (nombre, durée, ...), que l'on peut associer à l'action mécanique des CT.

L'étude des relations EHG/PIU, montre que certaines caractéristiques spectrales des EHG sont préférentiellement reliées à des caractéristiques particulières de la courbe de PIU (Terrien 2005c). Cela devrait permettre de définir des critères d'efficacité précis des contractions enregistrées par électromyographie, pour le suivi obstétrical de la détection d'un risque d'accouchement prématuré ou le suivi de l'efficacité d'un traitement tocolytique. FWL et FWH portent toutes les deux une information sur la propagation et l'excitabilité de l'utérus. Ces

résultats peuvent remettre en cause l'hypothèse selon laquelle FWL serait reliée à la propagation et FWH à l'excitabilité. Cependant, FWH porte une information principalement reliée à l'amplitude de la PIU et FWL à la pente maximale de celle-ci. Un modèle numérique de génération de la PIU a pu montrer que l'augmentation de l'excitabilité influe sur le recrutement spatial, ce qui a pour conséquence principale une augmentation de son amplitude (Wolfs and van Leeuwen 1979). Par contre, l'augmentation de la propagation de l'activité électrique de l'utérus induit un recrutement temporel plus important, ce qui agit directement sur la pente maximale de la PIU. Il semble donc que l'information principale codée par FWH et FWL soit néanmoins l'excitabilité et la propagation, respectivement.

Conclusion

Les enregistrements télémétriques de longue durée permettent d'étudier l'évolution de phénomènes physiologiques en condition non stressante pour l'animal. L'implantation des capteurs peut être une étape critique dans le bon déroulement de l'expérience comme le montrent les accouchements prématurés des femelles macaques dans notre étude. De plus, il est important de considérer les variations des conditions expérimentales (impédance inter-électrodes...). L'analyse dans le domaine fréquentiel, associée ou non à l'énergie relative dans chacune des fréquences, permet de s'affranchir de ces changements tout en conservant les informations sur le système étudié. Les enregistrements continus permettent aussi de mettre en évidence un comportement particulier du phénomène étudié, comme la présence d'un rythme circadien que nous avons pu observer pour l'EHG. Ces observations ainsi que l'application clinique des résultats obtenus demandent à être confirmées dans leur utilisation en médecine humaine.

Bibliographie

Buhimschi, C. and R. E. Garfield (1996) Uterine contractility as assessed by abdominal surface recording of electromyographic activity in rats during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 174(2), 744-53.

Carbonne B., Cabrol D., Clerget M. S., and Germain G. (1998) Effects of nomegestrol acetate on spontaneous and sulprostone-induced uterine contractions in pregnant cynomolgus monkeys monitored by telemetry. *Am J Obstet Gynecol* 178(1 Pt 1), 150-5.

Devedeux, D. (1995) Evaluation quantitative de certaines caractéristiques de distribution temps/fréquence : Application à l'EMG utérin. Thèse de l'Université de Technologie de Compiègne.

Devedeux D., Marque C., Mansour S., Germain G., and Duchêne J. (1993) Uterine electromyography: a critical review. *Am J Obstet Gynecol* 169(6), 1636-53.

Doret M., Bukowski R., Longo M., Maul H., and Maner W. L. (2005) Uterine electromyography characteristics for early diagnosis of mifepristone-induced preterm labor. *Obstet Gynecol* 105(4), 822-30.

Ducsay, C. A. and C. M. McNutt (1989). Circadian uterine activity in the pregnant rhesus macaque: do prostaglandins play a role?. *Biol Reprod* 40(5), 988-93.

Garfield R. E., Maul H., Shi L., Maner W. L., Fittkow C., Olsen G., and Saade G. R. (2001) Methods and devices for the management of term and preterm labor. *Ann N Y Acad Sci* 943, 203-24.

Garfield R. E., Saade G., Buhimschi C., Buhimschi I., Shi L., Shi S. Q., and Chwalisz K. (1998) Control and assessment of the uterus and cervix during pregnancy and labour. *Hum Reprod Update* 4(5), 673-95.

Hirst J. J., Haluska G. J., Cook M. J., and Novy M. J. (1993) Plasma oxytocin and nocturnal uterine activity: maternal but not fetal concentrations increase progressively during late pregnancy and delivery in rhesus monkeys. *Am J Obstet Gynecol* 169(2 Pt 1), 415-22.

Leman H., Marque C., and Gondry J. (1999) Use of the electrohysterogram signal for characterization of contractions during pregnancy. *IEEE Trans Biomed Eng* 46(10), 1222-9.

Matsumoto T., Hess D. L., Kaushal K. M., Valenzuela G. J., Yellon S. M., and Ducsay C. A. (1991) Circadian myometrial and endocrine rhythms in the pregnant rhesus macaque: effects of constant light and timed melatonin infusion. *Am J Obstet Gynecol* 165(6 Pt 1), 1777-84.

Morgan M. A., Silavin S. L., Wentworth R. A., Figueroa J. P., Honnebier B. O., Fishburne J. I., Jr., and Nathanielsz P. W. (1992) Different patterns of myometrial activity and 24-h rhythms in myometrial contractility in the gravid baboon during the second half of pregnancy. *Biol Reprod* 46(6), 1158-64.

Terrien J., Marque C., and Germain G. (2003) Study of the possible local influence of the placenta on the characteristics of uterine contractions. 1st EMG telemetry User Group Meeting, , Beerse, Belgium, 10-11.

Terrien J., Marque C., and Germain G. (2005a) Utilisation des contours actifs ou "snake" pour l'extraction des arêtes de représentations temps-fréquences: Application à l'analyse des contractions utérines. 20^{ème} Colloque GRETSI, Louvain-la-Neuve, Belgique, 112.

Terrien J., Marque C., and Germain G. (2005b) Circadian rhythms of the spectral characteristics of uterine EMG: A case study. ICCAC, Antalya, Turquie, 96-97.

Terrien, J. (2005c) Etude des répercussions de la position du placenta sur les caractéristiques des contractions utérines. Thèse de l'Université de Technologie de Compiègne.

Walsh S. W., Stanczyk F. Z., and Novy M. J. (1984) Daily hormonal changes in the maternal, fetal, and amniotic fluid compartments before parturition in a primate species. *J Clin Endocrinol Metab* 58(4), 629-39.

Wolfs, G. M. J. A. and M. van Leeuwen (1979) Electromyographic Observations on the Human Uterus during Labour. *Acta Obstet. Gynecol. Scand. Suppl.* 90, 1-62.

FABRICATIONS
PAJON



FABRIQUER, ENTREtenir, AMELIORER

Vos équipements d'animalerie



Vos équipements de travail



2 bis, rue des Pins - Z.I. des Bicharderies - 45400 Fleury-les-Aubrais - FRANCE
Tél. : (33) 02 38 86 41 97 - Fax : (33) 02 38 83 99 77 - E-mail : pajon.fab@wanadoo.fr

FABRICATIONS EN ACIER INOXYDABLE

Machines à laver pour animaleries



SA SASSARO
17700 SURGERES
TEL:05 46 07 21 44
FAX:05 46 07 04 50
MAIL:sassaro@wanadoo.fr



Pression artérielle chez la souris avec un nouveau transmetteur miniaturisé

Julie L. Lavoie

Département de Médecine, Université de Montréal et le Centre de recherche du CHUM – Technopole Angus, 2901 Rachel E., Montréal, Québec, H1W 4A4, Canada

Liste d'abréviations : DSI, Data Sciences International; PA, Pression artérielle; HA, Hypertension artérielle

Communication présentée dans le cadre du 4^{ème} colloque du GFRT en Février 2006 à Nîmes.

L'utilisation de souris transgéniques est devenue une pratique commune pour l'étude de gènes spécifiques. En effet, la technologie actuelle permet de manipuler aisément, selon nos objectifs, l'ADN de la souris. Par exemple, plusieurs modèles de souris transgéniques ont été produits pour étudier les mécanismes impliqués dans l'hypertension artérielle. Ainsi, plusieurs méthodes ont été développées pour la mesure de la pression artérielle (PA) chez la souris. Parmi celles-ci, la radiotélémétrie semble être la technique idéale puisque la collecte de données peut être faite de façon continue et sans avoir à manipuler l'animal. Ceci est possible avec aucune autre méthode. En effet, quoi que la mesure à la queue (tail-cuff) permette un enregistrement prolongé de la PA, la mesure est indirecte et nécessite que la souris soit « chauffée » et immobilisée. Avec les cathéters remplis de solution physiologique, la PA est mesurée directement mais ne peut être collectée pour des périodes prolongées puisque des caillots sanguins viennent à bloquer ces cathéters. Cette technique nécessite également une perfusion quotidienne du cathéter. De plus, il est impossible de mesurer la PA en continu pendant 24 heures avec ces 2 méthodes et elles nécessitent une présence humaine dans la pièce, ce qui pourrait stresser l'animal. En effet, les rongeurs, surtout les souris, sont très sensibles à la présence humaine et s'adaptent peu à être manipulés malgré des périodes prolongées d'entraînement¹. Ainsi, ces méthodes consistent donc à mesurer la PA pendant le stress. Dans ces conditions, une élévation de PA pourrait être simplement un reflet de leur sensibilité au stress^{1,2}.

La télémétrie est donc la méthode de choix pour les nombreux avantages cités ci-dessus, quoi qu'elle soit un peu plus coûteuse et peut comporter certains inconvénients. En effet, les implants de télémétrie PA-C20 de chez DSI sont volumineux, avec un poids d'environ 3.4 g, surtout compte tenu que le poids moyen de la souris varie entre 25 et 30 g. Nous avons observé, lors d'études prolongées, que les souris développaient souvent des plaies de pression et pouvaient même aller jusqu'à endommager les implants ce qui amène une perte de signal et est évidemment nuisible pour les études en cours. De plus, le développement de ces plaies était accéléré lors d'études utilisant des animaux immunodéprimés. Avec ce type de souris, nous avons pu améliorer de façon significative la survie des souris en prenant des précautions additionnelles. Par exemple, un traitement avec un antibiotique, Baytril 5 mg/kg de poids corporel, dans l'eau de boisson 24 heures avant la chirurgie et, pour une durée de 10 jours post-opératoire, diminue le risque de complications.

L'arrivée des nouveaux implants PA-C10 qui sont beaucoup plus légers, ne pesant que 1.4 g, permet de réduire les problèmes reliés au PA-C20. Nous avons remarqué que suite à l'implantation de ces nouveaux implants, les souris récupèrent plus rapidement des chirurgies. En effet, elles font leur nid, mangent normalement et sont plus actives dès le lendemain de la chirurgie. De plus, nous

Résumé

L'utilisation de la radiotélémétrie pour la mesure de la pression artérielle chez les rongeurs a permis de faire des études prolongées tout en maintenant les animaux dans leur milieu et sans les déranger. Toutefois, les premiers implants de souris développés par Data Science International (DSI), les PA-C20, étaient plutôt volumineux, avec un poids d'environ 3 g, surtout compte tenu que la souris moyenne pèse entre 25 et 30 g. Lors d'étude prolongée, les souris développaient souvent des plaies de pression et pouvaient même endommager les implants ce qui pouvait interférer avec les données de pression artérielle. L'arrivée des nouveaux implants, les PA-C10, qui sont beaucoup plus petits amène la possibilité de réduire les problèmes reliés au PA-C20. En effet, suite à l'implantation, les souris récupèrent plus rapidement des chirurgies. De plus, nous n'avons pas observé le développement de plaies de pression dans aucune de nos souris suite à une implantation prolongée, soit d'environ 45 jours. De plus, nous caractérisons la pression artérielle de différents modèles de pré-éclampsie ce qui pourrait ajouter au développement de plaies de pression. En effet, la pré-éclampsie est une pathologie de la grossesse et donc, nous prenons des mesures avant et tout au long de la gestation. Nous, ainsi que d'autres laboratoires, avons observé que l'implant de télémétrie n'a aucun impact sur la durée de gestation, le nombre de foetus ou leur développement. L'utilisation de ces nouveaux implants nécessite certaines modifications des méthodes chirurgicales employées lors de l'implantation. Entre autres, il est préférable de faire une plus petite poche sous-cutanée pour insérer le corps de l'implant, en contraste avec les PA-C20, afin de maintenir l'implant sur le flanc de la souris. Ainsi, ces nouveaux implants apportent les bénéfices des implants originaux tout en éliminant la plupart des inconvénients.

Mots clés : pré-éclampsie, télémétrie, techniques chirurgicales, souris.

Abstract

Arterial blood pressure measurement in mice with novel, miniaturized telemetry probes

Radiotelemetry has become the gold standard to obtain accurate blood pressure measurements in experimental animals. Although this technology is widely used, it requires invasive surgery consisting of carotid artery cannulation and subcutaneous placement of the body of the probe in mice. Previously, PA-C20 mouse probes were quite large, weighing around 3 g, and would often cause post-operative complications, particularly during long-term implantation, such as pressure necrosis leading to skin perforation at the implant site. Recently, Data Sciences International (DSI) has developed a new mouse probe, the PA-C10, which is half the size and weight of the original probe. With the new probes, we have noticed that mice recuperate much faster and do not develop any post-operative complications, even in pregnant mice. Indeed, we study different models of preeclampsia, and have observed no effect of the telemetry probes on gestation, parturition and fetus development. To accommodate the smaller size of the PA-C10 probes, modifications of the surgical protocol are required. For instance, it is preferable to make the subcutaneous pouch for the body of the probe smaller to maintain its placement on the flank of the animal. Hence, the new probes have all the advantages of the PA-C20 without the accompanying complications.

Key words: preeclampsia, surgical techniques, telemetry, mice

Adresse de Correspondance : Centre de recherche du CHUM – Technopole Angus, 2901 Rachel E., Bureau 310, Montréal, Québec, H1W 4A4, Canada.
Courriel : julie.lavoie.3@umontreal.ca

n'avons pas observé de plaie de pression dans aucune de nos souris suite à une implantation prolongée (jusqu'à 45 jours). Également, vu la plus petite taille de l'implant, les souris sont moins encombrées et peuvent se déplacer plus aisément alors qu'avec les PA-C20, les souris adoptaient parfois une démarche anormale vu l'emplacement de l'implant.



Figure 1. Comparaison de la taille et poids des implants PA-C20 par rapport au PA-C10. Tiré du site web de DSI, <http://www.datasci.com/products/transmitters/mouse.asp#pa>

Toutefois, certaines modifications chirurgicales doivent être faites pour de meilleurs résultats avec les implants PA-C10. Par exemple, il est préférable de faire la poche sous-cutanée pour le placement du corps de l'implant moins large qu'avec les PA-C20, soit dégager environ 2 cm à partir du flanc de l'animal plutôt que de dégager toute la peau de l'abdomen. En effet, si la poche est trop grande, ces petits implants peuvent se déplacer plus aisément et se retrouver sur l'abdomen ce qui peut être encombrant pour l'animal. De plus, en faisant bouger l'implant, la souris peut retirer le cathéter hors de la carotide, ce qui évidemment met fin à l'expérimentation.

Nous avons également remarqué qu'il était nécessaire de placer de la colle chirurgicale, par exemple du Vetbond (3M), sur les sutures entourant le cathéter ainsi que sur le cathéter près du cou (Figure 2) afin de maintenir l'implant en place. De plus, avec les PA-C10 il est possible de faire une plus petite incision au niveau du cou. Ceci représente un net avantage puisqu'il rend les points de suture moins accessibles à la souris. En effet, certaines souris ont tendance à gratter leurs points et ainsi ouvrir leur plaie.

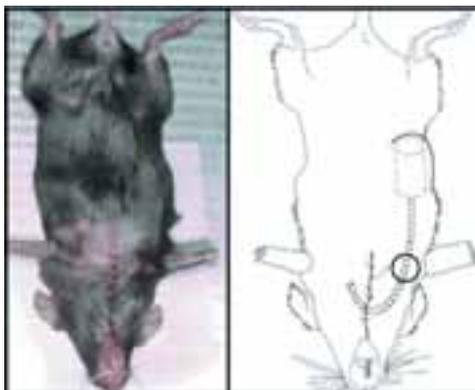


Figure 2. Souris télémétrisée. Sur l'image de droite, le cercle indique l'endroit où il est préférable de mettre de la colle chirurgicale.

Indépendamment du type d'implant utilisé, nous avons remarqué que certaines mesures produisaient de meilleurs résultats. Initialement, chez la souris, l'implantation du cathéter de la sonde de télémétrie s'effectuait au niveau de l'aorte abdominale, ce qui n'était pas bien toléré par les animaux. Par contre, plus récemment, une implantation dans la carotide amène une amélioration considérable du taux de succès. De plus, l'emploi d'anesthésie inhalable, comme l'isoflurane, plutôt que injectable, comme les cocktails de kétamine/xylazine, est préférable. Les animaux deviennent plus alertes plus rapidement suivant la chirurgie ce qui prévient largement certains problèmes reliés à l'hypothermie. De plus, les risques de surdosage sont très réduits avec ce type d'anesthésie. Nous avons également observé que l'injection de très petite quantité de Marcaine 0.5% sous-cutanée au niveau du cou et l'abdomen, où l'implant est placé, était très bénéfique. Entre autres, il réduit le nombre de plaies de pression lors de l'utilisation d'implant PA-C20.

Mon laboratoire s'intéresse à la pré-éclampsie qui est une maladie de la grossesse où les femmes développent de l'hypertension artérielle et de la protéinurie. Compte tenu que les symptômes de cette maladie se déclenchent rapidement chez la femme, il est extrêmement difficile d'étudier cette condition. Des modèles animaux ont donc été développés pour aider à comprendre les mécanismes impliqués dans cette pathologie. Ainsi, avec l'utilisation d'implant PA-C10, nous pouvons mesurer la PA tout au long de la gestation dans différents modèles de pré-éclampsie chez la souris. En effet, il a été démontré que la télémétrie n'avait aucun impact négatif sur la gestation, le foetus et la parturition⁴.

Pour conclure, les PA-C10 ont les mêmes avantages que les précédents PA-C20 mais sans les complications qui leurs étaient rattachées. Il est clair que la radiotélémétrie est la méthode de choix pour la mesure de la PA puisqu'elle permet de le faire, dans l'habitat habituel de la souris, sans manipulation de l'animal et sans restriction sur ses déplacements.

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier ma technicienne en santé animale, Catherine Michel, pour sa grande implication dans le traitement pré- et post-opératoire des souris ainsi que pour son assistance lors des chirurgies. Je voudrais également remercier notre vétérinaire, Dr Hélène Héon, pour ses bons conseils afin d'améliorer les soins et chirurgies des animaux. Les études présentées dans cet article ont été possibles avec l'aide de subventions obtenues des Instituts de Recherche en Santé du Canada (IRSC) et du Fond de la Recherche en Santé du Québec (FRSQ).

Références bibliographiques

(1) Gross V, Luft FC. Exercising restraint in measuring blood pressure in conscious mice. *Hypertension* 2003 April;41(4):879-81.

(2) Pelaez LI, Manriquez MC, Nath KA, Romero JC, Juncos LA. Low-dose angiotensin II enhances pressor responses without causing sustained hypertension. *Hypertension* 2003 October;42(4):798-801.

(3) Carlson SH, Wyss JM. Long-term telemetric recording of arterial pressure and heart rate in mice fed basal and high NaCl diets. *Hypertension* 2000;35:e1-e5.

(4) Davisson RL, Hoffmann DS, Butz GM, Aldape G, Schlager G, Merrill DC, Sethi S, Weiss RM, Bates JN. Discovery of a spontaneous genetic mouse model of preeclampsia. *Hypertension* 2002 February;39(2 Pt 2):337-42.



BIO.A.S
EHRET



Pour tout renseignement contacter CS LABO / Michel Guerry, Les Bruyères,
 69210 NUELLES, Tél. 0474014234 – Fax. 0474014580

EHRET
 LABOR- UND PHARMATECHNIK

D-79312 Emmendingen
 Fabrikstraße 2
 Tel.: +49 7641 / 9265-0
 Fax: +49 7641 / 47972
 info@ehretlab.com
 www.ehretlab.com

Méthode de prélèvement de sang chez le cobaye vigile lors d'études pharmacocinétiques

SC Marshall, DJ Moreton

Animal Science & Welfare Group, AstraZeneca R&D Charnwood, Bakewell Rd,
Loughborough, Leicestershire, LE11 5RH

Edition originale : *Animal Technology and Welfare*, 2004, Vol 3, N° 3, 181.

Publication avec l'aimable autorisation du Journal de L'I.A.T. (Institute of Animal Technology)

Auparavant nous menions des études de pharmacocinétique réglementaire sur des cobayes anesthésiés. Il s'est avéré nécessaire d'avoir la possibilité de travailler sur cobayes vigiles.

Dans la bibliographie nous avons trouvé une méthode préconisée pour des prélèvements sanguins répétés. (Ref 1)

Nous avons adapté cette technique afin d'atteindre nos objectifs :

- Eviter les problèmes d'interactions substances / anesthésiques.
- Administration des substances selon toute voie choisie.
- Prélèvement de sang sur 24 heures ou plus si nécessaire.
- Pas de diminution du métabolisme ou de la motricité intestinale.
- Pas de mortalité accidentelle.
- Réduction significative du nombre d'animaux utilisés.

Administration de substances

Les membres postérieurs des cobayes sont rasés la veille de l'essai afin de minimiser les effets secondaires : irritation, rougeur, pouvant interférer avec l'injection ou le prélèvement .

Les animaux sont placés dans une enceinte chauffante à 40 °C, pendant 3 minutes.

Les injections sont réalisées au niveau de la branche plantaire de la veine saphène.

PHOTO 1



PHOTO 2



Prélèvements

Il n'est pas utile de prévoir un temps de vasodilatation par la chaleur.

Le membre postérieur est étendu en le saisissant à l'extrémité entre le pouce et l'index pour exposer la veine saphène.

La branche dorsale est ponctionnée à l'aide d'une aiguille de 0.5 mm ou 0.6 mm de diamètre (25G – 23G).

Sur le site de ponction on place l'extrémité d'un tube contenant l'anticoagulant adapté.

Il se remplit par capillarité.

PHOTO 3



PHOTO 4



PHOTO 5



PHOTO 6



Avec cette technique on peut collecter 0.3 ml de sang. Sur une période de 24 heures nous avons prélevé jusqu'à 14 fois 0.3 ml.

Le nombre de prélèvements est seulement limité par le volume maximum de sang que l'on s'autorise à prélever à la fois du point de vue physiologique et éthique.

Nous utilisons cette technique en routine pour des études de pharmacocinétique chez le cobaye.

Bibliographie

Hem A, Smith A-J & Solberg P : Saphenous vein puncture for blood sampling of the mouse, rat, hamster, guinea pig, ferret and mink. *Laboratory animals*, 1998, 32, 364-368

The Marshall Standard is Recognizable

- International Beagle Production
- Genetic Consistency
- Proprietary Socialization Programs
- Biological Products
- Telemetry Device and VAP Placements
- Dedicated to Flexible, Personalized Service



Health, Socialization and Service...Worldwide

North America (315) 587 2295
infous@marshallbio.com

Europe (33) 4 72 56 98 60
infoeu@marshallbio.com



BIORESOURCES

ISO-9000 Certified Quality System



Ellegaard
GÖTTINGEN MINIPIGS ApS

ellegaard@minipigs.dk • www.minipigs.dk

Phone: +45 5818 5818 • Fax: +45 5818 5880

For Göttingen Minipigs in North America
please contact Marshall BioResources - info@marshallbio.com

Tous documents concernant cette rubrique doivent être adressés à M. A. PERROT (adresse indiquée en page de garde)

Vie des Sociétés



① Compte-rendu du « Colloque Humanité-animalité : pathologies et frontières »

organisé à l'Hôpital de la Salpêtrière le 16 novembre 2005, par la Fondation Ligue française des droits de l'animal.

Compte-rendu rédigé par le Pr Alain Collenot publié dans le n°49 (janvier 2006) du Bulletin d'information de la Fondation Ligue française des droits de l'animal, 39 rue Claude Bernard, 75005 Paris.

Placé sous les patronages de M. Xavier Bertrand, ministre de la Santé et des Solidarités et de M. Dominique Bussereau, ministre de l'Agriculture et de la Pêche, le colloque Humanité-animalité : pathologies et frontières a été organisé par les Professeurs François Bricaire, Alain Collenot, Michel Fontaine et Jean-Claude Nouët. Il s'est tenu le 16 novembre 2005 à l'Hôpital de la Salpêtrière dans l'auditorium de l'Institut de myologie, Pavillon Babinski.

Les exposés présentés le 16 novembre ont mis en évidence l'importance de l'environnement animal dans le déclenchement de diverses pathologies humaines. Pour

certaines d'entre elles qui sont bien caractérisées et dont les vecteurs sont connus, qu'il s'agisse de bactéries, de virus ou de parasites, le risque d'une épidémie apparaît très faible, sinon nul.

En revanche, les acteurs de beaucoup d'autres pathologies sont mal connus, et les risques difficiles à évaluer, et par conséquent à maîtriser.

Le Professeur Patrice Debré a présenté les différents aspects de l'immunité, qui assure la protection des organismes, tant humains qu'animaux, contre des agents étrangers et pathogènes. Les performances de l'immunité naturelle et de l'immunité adaptative sont réelles, mais elles ont leurs limites, et l'approfondissement de l'analyse de leurs mécanismes est indispensable pour en accroître l'efficacité. D'autant que l'évolution au cours du temps et les transformations des agents pathogènes eux-mêmes représentent des défis sans cesse renouvelés vis-à-vis des défenses des organismes.

C'est ce que le Docteur Jean-Claude Manuguerra a montré en exposant de façon détaillée l'analyse fine du rôle des mutations et des recombinaisons virales dans l'extension interspécifique des pathologies, notamment à propos des virus grippaux, tristement d'actualité.

Les transformations des agents pathogènes modulent ainsi les sensibilités intra- et interspécifiques parfois très différentes vis-à-vis de certains virus cités par le Docteur Hervé Zeller. Les arbovirus transmis par un arthropode

vecteur provoquent des pathologies de gravité variable, parfois mortelles. La spécificité est étroite quant aux vecteurs et aux hôtes sensibles pour la dengue par exemple, ou bien un grand nombre d'hôtes sont sensibles pour la West Nile. En ce qui concerne les hantavirus qui provoquent des fièvres hémorragiques en Eurasie, ou des syndromes pulmonaires en Amérique, chacun a pour réservoir un rongeur d'une espèce donnée. Notons que le réservoir viral des filovirus, qui déclenchent des fièvres hémorragiques chez l'homme et les grands singes en Afrique Centrale, n'est pas connu.

À l'aide de plusieurs exemples, le Docteur Marc Artois a montré les risques que constitue pour l'homme la faune sauvage, soit directement soit indirectement par l'intermédiaire de la faune domestique. Comme l'a exposé le professeur François Bricaire, ces risques, parfois insoupçonnés, sont accrus par la multiplication et l'ampleur des déplacements intercontinentaux, aussi bien que par les modifications climatiques entraînant la venue d'agents vecteurs dans des territoires jusqu'à maintenant épargnés. Il est donc impératif de mettre en place des protocoles de surveillance sanitaire et de contrôles aux frontières, ainsi que des modalités de prise en charge des sujets infectés ou malades.

Les pathologies animales ne constituent pas toutes des menaces pour l'humanité ; elles peuvent parfois être mises à profit pour analyser les mécanismes de certaines pathologies humaines, et mettre au point des approches thérapeutiques. À cet égard, le Docteur Stéphane Blot a montré l'intérêt d'exploiter certaines pathologies bien identifiées chez le chien, comme la narcolepsie, l'hémophilie, ou des myopathies.

En ce qui concerne ces dernières, la myopathie centronucléaire du chien labrador et la dystrophinopathie du golden retriever représentent un apport précieux pour la recherche biomédicale et, comme il l'a montré, pour la mise au point d'essais précliniques chez le chien.

Outre les pathologies canines spontanées d'origine génétique, d'autres manifestations pathologiques mimant des affections humaines ont pu être créées par des manipulations génétiques réalisées chez la souris. Le Docteur Jean-Louis Guénet a exposé plusieurs modalités techniques de ces manipulations, qui permettent indirectement d'analyser des affections humaines dont le déterminisme génétique est multigénique et complexe.

Il est évident que la notion de "frontière" entre humanité et animalité acquiert une nouvelle dimension dès lors que l'on aborde certains désordres psycho-pathologiques, cités par le Professeur Roland Jouvent.

Sa présentation d'une nouvelle approche conceptuelle des troubles obsessionnels compulsifs (les tocs) permet de souligner une véritable continuité entre l'animal et l'homme en ce qui concerne l'activité et le rôle des structures cérébrales sous-corticales dans la gestion des émotions. Ainsi, nous reconnaitrions une émotion avant de reconnaître un visage, et les médicaments psychotropes agiraient sur les structures sous-corticales.

Enfin, un autre type de "frontière" entre humanité et animalité a été abordé de façon originale par le Docteur Sabrina Krief, qui analyse l'automédication pratiquée par une population de chimpanzés qu'elle étudie en Ouganda. Les chimpanzés utilisent les feuilles de certaines plantes pour se débarrasser mécaniquement de parasites intestinaux. Les chimpanzés consomment aussi de la terre qui possède une composition proche de celle de certains pansements digestifs anti-diarrhéiques utilisés en médecine humaine. Cette même terre est aussi consommée par les populations humaines locales. L'étude de la consommation spécifique d'autres végétaux par les chimpanzés permet d'envisager la découverte de nouveaux agents thérapeutiques notamment vis-à-vis du paludisme.

Au total, il apparaît que dans le domaine des pathologies animales et humaines, la notion de "frontière" existe, mais qu'elle est parfois difficile à définir, et que pour toutes ces pathologies singulières, il n'y a pas de généralisation possible. Une étude approfondie, au cas par cas, est nécessaire pour évaluer la virulence de l'agent pathogène, la spécificité plus ou moins étroite des vecteurs de cet agent, la réceptivité des organismes sensibles potentiels, et en conséquence les risques encourus.

Les risques de pathologies nouvelles encore inconnues sont accrus alors que sont multipliés les rencontres et les contacts inhabituels, et jusqu'alors inexistantes entre les réservoirs, les vecteurs et les humains : soit à l'occasion de voyages exotiques non seulement vers les sites touristiques renommés, mais encore dans des "zones sauvages", sans informations ni précautions préalables ; soit à la faveur de l'acquisition de nouveaux animaux de compagnie, dont le rôle de vecteur ou de réservoir est totalement inconnu.

Réunions Scientifiques



1 Journée - Com'Tech le 2 février 2007

Date : 2 février 2007
Lieu : Ecole Militaire de Paris
Thème : Les 4 "C" des animaux de laboratoire : Créer, Caractériser, Croiser, Conserver

Renseignements et inscriptions :

comtech@afstal.com
Alpha Visa Congrès
624, rue des Grèzes
34070 Montpellier Tél : 04 67 03 03 00

2 10th FELASA symposium and XIV ICLAS General Assembly & Conference



Date : du 11 au 14 juin 2007
Lieu : Centre des congrès - Villa Erba, Cernobbio (CO) Italie

Renseignements et inscriptions :

AISAL www.aisal.org

ICLAS www.iclas.org

felasa www.felasa.org



www.felasa-iclas2007.com



Dommi International s.r.l.
Via Rossini 1
20122 Milano - Italy
Telephone: +39 02 7779181
Fax: +39 02 76000181

Contact : Stefania Sella

General information :

info@felasa-iclas2007.com

Registration :

registration@felasa-iclas2007.com

Exhibition :

exhibition@felasa-iclas2007.com

Hotel request :

hotels@felasa-iclas2007.com

Scientific Committee :

scientific_committee@felasa-iclas2007.com

3 Journées d'Etudes Scientifiques et Techniques - AFSTAL 2007

« *L'exploration in vivo en recherche biomédicale : évolutions technologiques* »

REIMS - NOVEMBRE 2007

Date : 28-29-30 novembre 2007

Lieu : Palais des Congrès REIMS

Thème : « L'exploration in vivo en recherche biomédicale : évolutions technologiques »

Renseignements et inscriptions :

AFSTAL
afstal@free.fr

ALPHA VISA CONGRES
624, rue des Grèzes
34070 Montpellier
Tél : 04 67 03 03 00

Législation

Arrêté du 7 juillet 2006 portant nomination au Comité national de réflexion éthique sur l'expérimentation animale

J.O du 21 Juillet 2006 texte n° 45

Par arrêté du ministre de l'agriculture et de la pêche et du ministre délégué à l'enseignement supérieur et à la recherche en date du 7 juillet 2006 :

Est nommé président du Comité national de réflexion éthique sur l'expérimentation animale :
M. Parodi (André).

Sont nommés membres du Comité national de réflexion éthique sur l'expérimentation animale :

En qualité de représentants de l'Etat

Au titre de la recherche :

M. Andrieux (Bernard), en qualité de titulaire.
Mme Daoust (Martine), en qualité de suppléante.

Au titre de l'agriculture :

Mme Maillot (Evelyne), en qualité de titulaire.
Mme Bouvier (Catherine), en qualité de suppléante.

En qualité de personnalités qualifiées professionnelles de l'expérimentation animale, choisies dans le secteur public

De la recherche :

M. Puget (Alain), en qualité de titulaire.
Mme Veissier (Isabelle), en qualité de suppléante.

De l'enseignement :

M. Feuerstein (Claude), en qualité de titulaire.
M. Cassagne (Claude), en qualité de suppléant.

En qualité de personnalités qualifiées professionnelles de l'expérimentation animale, proposées par les organisations représentatives du secteur industriel privé

M. Gallix (Pierre), en qualité de titulaire.
Mme Autissier (Chantal), en qualité de suppléante,

dont un pharmacien :

Mme Fould (Geneviève), en qualité de titulaire.
M. Barneoud (Pascal), en qualité de suppléant.

En qualité de personnalités du secteur médical exerçant tout ou partie de leur activité en milieu hospitalier

M. Ameisen (Jean-Claude), en qualité de titulaire.
M. Fardeau (Michel), en qualité de suppléant.

En qualité de personnalités du secteur vétérinaire

Mme Sauvage (Dona), en qualité de titulaire.
M. Milhaud (Claude), en qualité de suppléant.

En qualité de personnalités qualifiées dans les domaines

De la philosophie :

Mme Proust (Joëlle), en qualité de titulaire.
M. Picavet (Emmanuel), en qualité de suppléant.

Des sciences juridiques :

Mme Lepage (Agathe), en qualité de titulaire.
M. Andriantsimbazovina (Joël), en qualité de suppléant.

De la sociologie :

M. Larrère (Gérard), en qualité de titulaire.
M. Guillo (Dominique), en qualité de suppléant.

En qualité de personnalités désignées sur proposition d'associations de protection des animaux et de la nature

M. Chapouthier (Georges), en qualité de titulaire.

M. Collenot (Alain), en qualité de suppléant.

M. Marie (Christophe), en qualité de titulaire.

Mme Granier-Bompard (Françoise), en qualité de suppléante.

Mme Hasson (Anne-Marie), en qualité de titulaire.

M. Kieffer (Jean-Pierre), en qualité de suppléant.

Enseignement

1 Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse : formation continue 2007



FERTILITÉ ET COMPORTEMENT DES ANIMAUX DE LABORATOIRE

(une semaine)

Semaine du 26 mars

NEURO-ANATOMIE ET NEURO-HISTOLOGIE DES ANIMAUX DE LABORATOIRE

(une semaine)

Semaine du 21 mai

Renseignements et inscriptions

Pr. J. Sautet
Anatomie-Embryologie
Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
23 chemin des Capelles BP 87614
31076 Toulouse cedex 3 - FRANCE
Tél. 05 61 19 38 98 Fax 05 61 19 32 24
e-mail : j.sautet@envt.fr

Cet enseignement est agréé dans le cadre de la loi sur la formation continue.

Office International des Epizooties



Service des publications

12, rue de Prony
75017 Paris, France

Tél : 33 (0)1 44 15 18 88
Fax : 33 (0)1 42 67 09 87

E-mail : oie@oie.int

Catalogue des publications : pub.sales@oie.int



Catastrophes biologiques d'origine animale **Le rôle et la préparation des Services vétérinaires et de santé publique**

Revue Scientifique et technique

Vol. 25 (1), avril 2006,
465 pages

ISSN 0253-1933
ISBN 92-9044-661-7
462 pages
Format: 21 x 29,7 cm

Prix : 50 € (frais d'expédition par voie aérienne inclus pour tous pays)
Réf. : R 25 (1)

Depuis octobre 2001, de nombreux pays ont avancé à plusieurs reprises la possibilité que surgissent des foyers de maladie d'origine intentionnelle. Cet ouvrage passe en revue l'histoire et l'impact de tels épisodes qui nous apportent des révélations surprenantes quant à l'étendue du risque, mais aussi des incertitudes qui lui sont liées. En même temps, nous savons que les maladies « traditionnelles » continueront de sévir. Dans notre économie mondialisée, tout événement survenant à un endroit précis du globe représente une menace pour toute la planète, et ce plus rapidement qu'on ne l'imagine. Les événements liés à la pandémie actuelle d'influenza aviaire due au virus de sous-type H5N1 nous rappellent utilement que nous devons nous intéresser non seulement aux risques inhérents au commerce mondialisé, mais aussi aux migrations d'oiseaux sauvages qui ignorent tout des frontières et des réglementations internationales.

C'est notre capacité à planifier et à maîtriser efficacement les foyers de maladies traditionnelles et émergentes qui nous indique si nous sommes effectivement prêts à faire face à une éventuelle introduction délibérée de foyers, et ce, à tout moment et en quelque lieu que ce soit. Les maladies animales ont un coût de plus en plus élevé, même si leur incidence diminue. Avec des élevages de plus en plus performants en termes de production et de santé animale, nous dépendons de plus en plus de Services vétérinaires sans expérience de terrain de lutte contre les épidémies. De ce fait, la planification et la formation doivent reposer sur l'utilisation de modèles valides. Les réactions de panique doivent être évitées au moyen d'une communication transparente. Les laboratoires doivent être prêts à répondre au flux de demandes et à fournir une expertise médico-légale. L'application conforme des normes de l'OIE par les Services vétérinaires, les mesures de détection précoce et de réponse rapide, l'enregistrement des troupeaux, le diagnostic rapide et l'enregistrement des données sur le terrain, la coordination entre les différentes organisations, sont autant d'éléments cruciaux qui constituent les axes de notre action, et sont traités dans la présente publication par des experts reconnus.



Sécurité sanitaire des aliments issus de la production animale et commerce mondial

Revue Scientifique et technique

Vol. 25 (2), août 2006,
400 pages

ISSN 0253-1933
ISBN 92-9044-662-5

392 pages (approximativement)

Format : 21 x 29,7 cm

Prix : 50 € (frais d'expédition par voie aérienne inclus pour tous pays)

Réf. : R 25 (2)

Dans le contexte mondial de la production animale, tant dans les pays industrialisés que dans les pays en développement, la présente Revue décrit les différents dangers susceptibles de se présenter durant la phase de production, y compris les problèmes liés à l'élevage des poissons, mollusques et crustacés. Elle examine également les réponses aux problèmes liés à la sécurité sanitaire des aliments, notamment l'élaboration de politiques et l'application pratique des mesures de sécurité sanitaire des aliments dans les élevages, le lien entre la sécurité sanitaire des aliments et l'accès aux marchés, les responsabilités des Services vétérinaires et

l'investissement public pour leur renforcement et celui des autres services chargés de veiller à la sécurité sanitaire des aliments. En outre, la mise en œuvre de systèmes de traçabilité et la question de l'antibiorésistance et de l'utilisation prudente des antibiotiques sont examinées. La dernière section porte sur les perspectives mondiales - organisations internationales de normalisation et parties prenantes.



Code sanitaire pour les animaux terrestres

Code terrestre
15^e édition, 2006
Format : 21 x 29,7 cm
ISBN : 92-9044-678-1
Réf. : F 146
Prix : 55 €

L'objectif du *Code sanitaire pour les animaux terrestres* est d'assurer la sécurité sanitaire des échanges internationaux d'animaux terrestres et de leurs produits dérivés, grâce à la définition détaillée des mesures sanitaires que les Autorités vétérinaires des pays importateur et exportateur doivent appliquer afin d'éviter le transfert d'agents pathogènes pour l'animal ou pour l'homme, tout en prévenant l'instauration de barrières sanitaires injustifiées.

L'élaboration des normes, lignes directrices et recommandations de l'OIE est le fruit d'un travail continu entrepris depuis 1960 par l'une des commissions spécialisées de l'OIE, appelée **Commission des normes sanitaires pour les animaux terrestres**.

Cette Commission fait appel aux meilleurs spécialistes mondiaux pour préparer de nouveaux projets d'articles du Code sanitaire pour les animaux terrestres ou bien procéder à la révision des articles existants en fonction des progrès de la science vétérinaire.

Les mesures sanitaires figurant dans le Code sanitaire pour les animaux terrestres résultent d'un large consensus des Autorités vétérinaires des Pays Membres de l'OIE ; elles ont été retenues par l'Organisation mondiale du commerce (**OMC**) dans le cadre de l'Accord sur l'application des mesures sanitaires et phytosanitaires pour être la norme internationale en matière de santé animale et de zoonoses.

Le Code sanitaire pour les animaux terrestres de l'OIE constitue un ouvrage de référence indispensable aux responsables des Autorités vétérinaires, des services d'importation et d'exportation, aux épidémiologistes, ainsi qu'aux personnes intéressées par le commerce international des animaux et des produits d'origine animale.

L'ANIMAL MEDECIN

Par **Charles PILET**

Editions « Actes Sud » - Novembre 2005
285 pages
ISBN2-7427-5857-7/ AS2398.

Note de présentation par
Monsieur Henri MAURIN-BLANCHET,
Docteur Vétérinaire

Le livre intitulé *L'ANIMAL MÉDECIN*, dont l'auteur est Charles PILET, professeur honoraire et ancien directeur de l'École Nationale Vétérinaire d'Alfort, président honoraire de l'Académie nationale de médecine et de l'Académie vétérinaire de France, fait l'objet de la présente communication.

Cet ouvrage de 285 pages a été édité par les éditions "Actes Sud" en novembre 2005.

Il est sous-titré "OGM et nouveaux médicaments, greffes, vache folle, grippe aviaire,..." et un bandeau de couverture, volontiers accrocheur, annonce : "Il y a un animal dans votre santé" !

Il convient de noter que cet essai, ainsi qu'il est nommé, a été rédigé avec Nicole PRIOLLAUD, spécialiste en communication - santé.

La nature exacte et l'importance de cette collaboration ne sont pas davantage développés. On peut supposer qu'à l'instar de la réalisation du Livre Blanc de l'expérimentation animale INSERM CNRS de 1995, il aura été jugé judicieux et fructueux d'associer une personne approchant le journalisme et susceptible de permettre au plus grand nombre possible de lecteurs d'éviter l'écueil d'un langage scientifique souvent aride voire abscons pour le public non averti.

D'ores et déjà la lecture aisée de l'ouvrage démontre que le but est atteint, sans toutefois tomber dans la vulgarisation simpliste.

D'ailleurs si le vocabulaire du spécialiste se révèle incontournable au cours du texte, des annexes étoffées permettent au lecteur de s'informer sur la signification des noms scientifiques utilisés, ainsi que sur le sens des sigles, tels que O.G.M., D.L 50, ESB, mais aussi des abréviations désignant les institutions telles que AFSSA, CNER, CNRS.

Une troisième annexe renseigne sur la vie et les réalisations de personnalités du monde scientifique dont les noms propres apparaissent au détour des pages.

Cette procédure évite donc les renvois incessants en bas de page et allège la présentation de l'ensemble.

Sur le fond, je sais que des commentaires qualifiés et élogieux ont été émis dans la Presse, dès la parution du livre : ainsi de l'article de Bernard SCHMITT dans la revue "Pour la Science", n° 344 de juin 2006 (page 100), lequel reprend les thèmes essentiels abordés au cours des sept chapitres principaux.

Un premier volet, historique, illustre le rôle prépondérant mais contraint de l'animal dans le développement des sciences biologiques, ce, de Edward JENNER à Louis PASTEUR en passant par Claude BERNARD par exemple.

Les progrès constants et rapides des biotechnologies sont désormais heureusement accompagnées de mesures prenant en compte le bien-être animal et impliquant des notions d'éthique à l'expérimentation animale. Tout cet ensemble concourt à une réduction régulière dans le temps du nombre d'animaux vertébrés utilisés.

L'auteur fera aussi la part belle aux risques biologiques que peuvent entraîner les animaux (65,5 millions d'animaux domestiques en Europe). Les zoonoses seront donc largement abordées avec l'approche concrète de pathologies transmises à l'homme, et de la manière adoptée par les pouvoirs publics pour y faire face (les gripes aviaire et porcine, l'encéphalite spongiforme bovine etc ...).

Il convient de saluer ici la volonté du professeur PILET de faire partager sa conviction étayée par l'exemple, de l'utilité toujours actuelle de l'expérimentation "in vivo" et "in toto", tout en affirmant la nécessité de promouvoir la mise au point de méthodes dites "alternatives" ou complémentaires, validées, à ces procédures administrées à l'animal vivant, trop souvent contestés sans argumentaire probant de la part d'activistes, au demeurant généralement sincères.

Quelques idées force ressortent de la lecture de cet ouvrage.

Outre l'utilité de l'animal pour l'humanité, il s'agit d'une réhabilitation de l'animal dans l'histoire de la Médecine, dont les maladies spontanées ou provoquées restent une modélisation des pathologies humaines.

La physiologie intégrative et la notion de "prérequis animal" sont inhérents aux progrès de la recherche médicale.

Néanmoins, avec l'OMS, on n'oubliera pas que 480 zoonoses ont été répertoriées à ce jour.

Enfin, s'il fallait apporter quelques bémols à cette analyse, ce serait sur l'absence du rappel de l'existence de quelques ouvrages de référence à consulter, tels que celui de l'Académie des sciences sur la Physiologie intégrative (en février 2000), l'ouvrage du CNER (en décembre 2002) ou les synthèses récentes réalisées par l'OIE à propos des zoonoses.

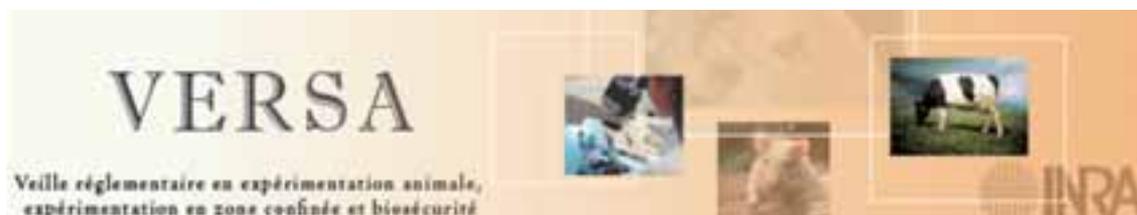
La lecture du livre aurait sans doute été rendue plus agréable grâce à une présentation plus aérée, car les paragraphes successifs s'enchaînent le plus souvent en continu.

Nous ne saurions mieux conclure cet exposé rapide qu'en évoquant ici le communiqué de Presse conjoint des Académies de médecine et vétérinaire du 7 mars 2006 intitulé *Faut-il avoir peur des maladies des animaux ?*, mettant en évidence l'importance de la prise en compte du réservoir animal mais aussi de développer la lutte au niveau international dans un esprit de coopération entre médecins et vétérinaires, mais aussi entre pays développés et pays en voie de développement.



Le département Santé animale de l'INRA met progressivement en place, en Santé animale et Santé publique vétérinaire, une série d'outils collaboratifs sur le web :

① **La veille réglementaire en expérimentation animale en zone confinée**



<http://www.tours.inra.fr/sa/internet/reglementation/index.php>

② **La veille industrielle en Santé Animale VISA : le projet en cours de développement en partenariat avec les services centraux de l'INRA et sera mis en ligne via l'intranet du département;**

③ **Les événements en santé animale en santé publique : @GENDA mise en ligne fin 2006,**

④ **Le portail en santé animale en France, mise en ligne 2007,**

⑤ **La veille sanitaire : mise en ligne 2007,**

⑥ **La veille documentaire francophone VELISA qui rassemble dans une base de données accessible sur internet la littérature francophone en santé animale et en santé publique vétérinaire.**



<http://wcentre.tours.inra.fr/sa/internet/velisa/index.php>

SEPPIC

MONTANIDE™

Adjuvants pour la production d'anticorps

www.montanide.com

CERTIFIÉ EUROPÉEN !

CERTIFIED AND EUROPEAN !
GECERTIFICEERD & EUROPEES !
EUROPÄISCH UND ZERTIFIZIERT !



- Un éleveur européen, indépendant et international.
- Une performance scientifique pour répondre à vos besoins.
- Une souplesse et la personnalisation de nos services.
- Une éthique professionnelle et le respect de l'animal.
- La certification ISO 9001:2000 comme gage de confiance.

 **JANVIER**

Route des Chênes Secs - BP 5
53940 LE GENEST-ST-ISLE - France
Tél. : + 33 (0) 2 43 02 11 91
Fax : + 33 (0) 2 43 02 00 15
E-mail : service.commercial@elevage-janvier.fr
Site-web : www.janvier-breedingcenter.com



*Parce que l'environnement est
aussi l'une de nos préoccupations...*



55 litres d'eau consommés par cycle
80 ml de détergent utilisés par cycle
10 kg de vapeur consommés par cycle

Distribué en France par:

Tecniplast France s.a.s.

Le Shamal, 1 Allée des Séquoïas

69760 LIMONEST

Tel. 06 68 23 62 91

IWT s.r.l.

Via Galliani, 68 B • 21020 Casale Litta - Va - Italy

Tel. +39 0332 96701 • Fax +39 0332 94 54 41

www.iwtsrl.it • E-mail: info@iwtsrl.it

IWT

A Tecniplast Company

washing • disinfection • automation



Litières pour animaux
de laboratoires

➔ **STERILABO**

➔ **COPOLABO**

Deux usines
au service de la qualité



BP 54 - F 94142 ALFORTVILLE Cedex
Tél. 01 43 75 18 87 - Fax 01 43 75 52 68 - www.sicsa.fr



Siège Social :

28, rue Saint-Dominique,
75007 Paris.
Tél./Fax : 01 45 56 91 16.
E-mail : afstal@free.fr

Cette Société a pour buts :

- d'une manière générale, de rationaliser et d'améliorer l'usage des animaux de laboratoire au service de la santé de l'homme et de l'animal ;
- en particulier, de codifier l'éthique de leur utilisation et d'en faire mieux connaître les principes ;
- d'encourager la recherche et de promouvoir les connaissances concernant la biologie et la pathologie des animaux de laboratoire ;
- de mettre en œuvre les moyens destinés à permettre de limiter quantitativement leur emploi ;
- de développer les relations interdisciplinaires centrées sur l'animal de laboratoire ;
- d'échanger régulièrement au moyen de colloques, de groupes de travail et de communication toutes les informations scientifiques et techniques relatives aux animaux de laboratoire ;
- d'entreprendre toutes les activités scientifiques qui s'y rapportent ;
- d'entreprendre, le cas échéant, toute action jugée utile à la défense des expérimentateurs respectant les règles d'éthique et la réglementation en vigueur.

Conseil d'administration :

<i>Présidente :</i>	Annie REBER
<i>Vice-Président :</i>	Bernard GOTTI
<i>Secrétaire :</i>	Stéphanie SERRE
<i>Secrétaire adjointe :</i>	Delphine GRÉZEL
<i>Trésorier :</i>	Pierre BOUGNEUX
<i>Trésorière adjointe :</i>	Marion BERARD
<i>Membres du Conseil :</i>	Hélène COMBRISSEON, Jean-Claude DESFONTIS, Christophe CHARNAY, Nicolas HERRENSCHMIDT, Monique PRESSAC, Françoise QUINTIN-COLONNA, Jacques SERVIERES
<i>Secrétaire administrative :</i>	Françoise DEBAECKER

Service de la Revue "STAL"

<i>Rédacteur en Chef :</i>	A. DORIER
<i>Comité de Rédaction :</i>	Les membres du conseil d'administration
<i>Publicité :</i>	P. BOUGNEUX
<i>Rubrique Informations :</i>	A. PERROT
<i>Gérant de la Revue :</i>	J.-P. CHAMPIER

DES SOLUTIONS TECHNOLOGIQUES À 360° POUR DES HOTTES



BS60: UN MAXIMUM DE PLACE POUR TRAVAILLER



BS48: UTILISABLE À LA FOIS EN HOTTE
DE CHANGE DE CAGES ET EN HOTTE PSMII



INTERACTIVE: LA HOTTE DOUBLE FACES QUI
VA PARTOUT OÙ VOUS VOULEZ



AC74: HOTTE DE STOCKAGE ANTI ALLERGIQUE



DS36: UNE GRANDE OUVERTURE POUR UN ACCÈS FACILE

SPÉCIFIQUEMENT CONÇUES POUR LA SCIENCE DES ANIMAUX DE LABORATOIRE

TECNIPLAST FRANCE sas

Le Sarnet, 1 allée des séquoias 69760 Limonest

Tel: 04 72 52 94 41 - Fax 04 72 17 02 66

E-mail: info@tecniplast.fr - Web site: www.tecniplast.fr



TECNIPLAST
Flow Division



L'EXPÉRIENCE DE PLUS DE 200 000 CONTRÔLES PAR AN

Depuis plus de 40 ans, nos services de diagnostic sanitaire et génétique assurent le contrôle de la qualité sanitaire et génétique des productions de Charles River Laboratories.

Aujourd'hui, plus de 200 000 profils sérologiques, analyses microbiologiques, tests génétiques et observations cliniques sont réalisés annuellement dans nos laboratoires pour nos clients et l'ensemble des sites de production européens du groupe Charles River Laboratories.

Pour maîtriser les statuts de vos lignées, nous vous invitons à bénéficier d'une expérience inégalée en matière de développement et de mise en œuvre de programmes de contrôles sanitaires et génétiques.

Des informations complémentaires sur notre offre de services sont disponibles, contactez-nous via dx@eu.criver.com