

Campagne éducative "Surveillez les envahisseurs des milieux aquatiques. Ouvrez l'œil!"

Protocole d'euthanasie développé par :
Le Conseil québécois des espèces exotiques
envahissantes (CQEEE)

Février 2015



Conseil québécois
des espèces exotiques
envahissantes

Table des matières

1- Introduction.....	3
2. Le principe des trois R	4
Remplacement.....	4
Réduction	4
Raffinement	4
3. Protocoles d'euthanasie	4
Les poissons	5
A) Méthodes chimiques	5
B) Méthodes physiques.....	6
C) Méthodes non acceptables	7
Les invertébrés aquatiques.....	8
Autres organismes.....	8
4. Protocoles de disposition.....	8
Animaux, algues et plantes aquatiques.....	8
Eau d'aquarium.....	8
5. Remerciements	9
6. Références.....	10

1- Introduction

Le Conseil québécois des espèces exotiques envahissantes a œuvré, au cours des derniers mois, à la mise sur pied d'un projet de sensibilisation ciblant trois vecteurs d'introduction d'espèces aquatiques envahissantes dans le fleuve Saint-Laurent (communauté bouddhistes, les aquariophiles et les écoles). Vous trouverez plus d'informations au sujet de ces vecteurs en suivant ce lien : http://vecteurs.cqeee.org/?page_id=1069.

Nous avons porté une attention particulière aux écoles, car il a été démontré que certaines d'entre elles (ex. aux États-Unis et dans l'Ouest canadien) aient été vecteur d'introduction d'espèces exotiques. Par ailleurs notre sondage (2013-2014) a révélé que le personnel des écoles québécoises n'a été que peu ou rarement conscientisé à cette problématique auparavant. Pour remédier à cette situation, nous avons développé, avec leur étroite collaboration, un guide de bonnes pratiques. Ce guide aborde de manière complète les questions relatives à la gestion des organismes aquatiques les plus utilisés par les écoles : (<http://vecteurs.cqeee.org/wpcontent/uploads/sites/5/2014/08/guide.pdf>).

Dans cette perspective, nous avons également développé un protocole abordant l'euthanasie et la disposition des organismes, une ressource peu disponible à l'heure actuelle. Ce protocole permettra de bonifier les pratiques actuelles, les rendant plus éthiques, et moins dommageables pour l'environnement en limitant les risques de relâchement d'EE en milieu naturel. Ce document a été rendu possible grâce au soutien financier du Plan d'interaction communautaire soutenu par le Plan St-Laurent. Le but de cette publication est d'orienter les pratiques en matière de dispositions du matériel vivant utilisés dans le cadre des activités d'apprentissages (laboratoires, expérimentations, animaux de compagnie). Les textes contenus dans ce document comportent des éléments sensibles liés à l'euthanasie d'animaux et sont parfois difficiles à lire. Nous préférons vous en avertir.

Note au lecteur : Précisons que les pratiques et les techniques décrites dans ce document sont inspirées de références scientifiques et techniques et sont validées par un professionnel de médecine vétérinaire. Avant d'appliquer les protocoles proposés dans ce guide, assurez-vous d'avoir obtenu l'approbation de votre institution. Le Conseil québécois des espèces exotiques envahissantes se décharge de toutes responsabilités en cas de litige d'ordre éthique et moral relatif à la manipulation et l'euthanasie d'organismes vivants.

2. Le principe des trois R

Développé par W.M.S. Russell et R.L. Burch dans leur livre publié à la fin des années 50, le principe des trois R vise à limiter le nombre d'animaux utilisés en laboratoire et à maximiser le respect envers ceux-ci (CCPA 2014).

Remplacement : Il faut se demander si l'on peut remplacer l'animal que l'on veut utiliser pour une activité. Il est alors possible de parler de remplacement au sens *strict* ou au sens *relatif*, qui sont respectivement la réalisation de cette activité sans l'usage d'animaux ou le remplacement de l'animal visé initialement par une autre espèce, qui selon les connaissances scientifiques actuelles, serait beaucoup moins sensible au stress et/ou à la douleur. Le remplacement d'un vertébré par un invertébré est un bon exemple dans ce dernier cas.

Réduction : Si l'utilisation d'animaux vivants est absolument nécessaire à l'activité, il est indiqué de trouver des moyens pour réduire le nombre d'organismes requis. Toutefois, il se peut que cela soit impossible dans certains cas, par exemple lorsqu'un nombre requis de spécimens est nécessaire à l'obtention de statistiques valides (Robinson 2005).

Raffinement : Le raffinement consiste à peaufiner les méthodes d'élevage et de garde en captivité de même que les protocoles expérimentaux de sorte que l'animal souffre le moins possible tout au long du processus expérimental.

3. Protocoles d'euthanasie

Lorsque possible, le don des organismes utilisés dans le cadre d'activités pédagogiques ou de recherche devrait toujours être privilégié. S'assurer de sensibiliser le receveur aux risques que pose le relâchement des organismes en milieux naturels. Aucun poisson génétiquement modifié ne peut par contre être donné à un particulier qui l'amènera à son domicile privé (CCPA 2005). Dans le cas où il y a absence de receveurs potentiels et la nécessité de s'en départir, l'euthanasie devient alors la seule alternative : le relâchement en nature n'est pas une option! Les protocoles d'euthanasie présentés dans les prochaines sections sont jugés acceptables puisque minimisant la souffrance des organismes utilisés. Ces protocoles sont issus des recommandations faites par le Conseil canadien de protection des animaux (CCPA) et l'*American Veterinary Medical Association* (AVMA).

De façon générale, il s'agit de créer un environnement le moins stressant possible pour les organismes à euthanasier : réduire la luminosité et utiliser l'eau

de l'aquarium dans lequel se trouvent les organismes pour la préparation des solutions pour l'euthanasie sont des exemples de démarches à préconiser (AVMA 2013).

Les poissons

Comme les poissons représentent le groupe de vertébrés le plus diversifié, il est difficile de développer un protocole unique (Borski & Hodson 2003). Plusieurs techniques d'euthanasie existent donc pour ces organismes et sont classées en deux groupes : les méthodes physiques et les méthodes chimiques par immersion. Si une méthode chimique par immersion est choisie, une fois la perte de conscience atteinte, il est préférable de s'assurer du décès en effectuant une méthode physique d'euthanasie.

A) Méthodes chimiques

Général – Les méthodes chimiques d'euthanasie présentées ici ne comportent qu'une seule étape et sont limitées à celles dont le composé chimique peut facilement être trouvé sur le marché. Les composés chimiques présentés dans les lignes suivantes sont souvent utilisés pour l'anesthésie. À des fins d'euthanasie, il suffit d'en utiliser une surdose. Consultez le document de l'AVMA (2013) pour plus d'information sur les autres composés chimiques pouvant être utilisés. Afin de minimiser le volume de l'agent euthanasiant à utiliser, il est préférable de transférer le poisson à euthanasier dans un plus petit contenant. Bien évidemment, les méthodes d'euthanasie par immersion sont à proscrire pour les espèces de poissons retenant leur souffle ou ayant la capacité à respirer l'air ambiant (CCPA 2010).

Huile essentielle de clou de girofle (Eugenol) – L'huile essentielle de clou de girofle est abordable et disponible dans plusieurs boutiques d'herboristerie et d'aliments naturels. Elle doit être gardée dans un contenant opaque à cause de sa sensibilité à la lumière (Anderson *et al.* 1997). Une concentration $\geq 400 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ d'eugénol, i.e. l'ingrédient actif de l'huile (formant 90-95% de celle-ci, Anderson *et al.* 1997), est requise pour tuer les poissons (RSPCA 2013). Grosso modo, cela équivaut à $\sim 0.5 \text{ ml} \cdot \text{L}^{-1}$ de solution dans lequel les poissons se trouvent. Il est recommandé d'utiliser, lorsque possible, une solution-mère avec une concentration connue d'huiles essentielles pour pouvoir, avec plus de précision, calculer la dose adéquate d'euthanasie. Puisque cette huile essentielle contient aussi des composés potentiellement cancérigènes (comme l'isoeugénol), la consommation des spécimens à la suite de son euthanasie est à proscrire.

Protocole :

1. Calculer le volume d'eau dans lequel le poisson sera euthanasié et le volume d'huile de clou de girofle à ajouter à cette eau pour une mise à mort efficace du poisson.
2. Mélanger vigoureusement dans un contenant adéquat le volume d'huile de clou de girofle requis avec un peu d'eau. S'il est difficile de bien mélanger l'huile et l'eau, l'huile de clou de girofle peut être préalablement mélangée avec de l'éthanol 95% dans un ratio 1 :10 (huile de clou de girofle : éthanol 95%) pour faciliter le mélange (Anderson *et al.* 1997).
3. Verser progressivement cette solution (sur une période d'environ 5 minutes) dans le contenant où se trouve le poisson à euthanasier pour éviter la surexcitation de celui-ci (RSPCA 2013).
4. Laisser le poisson dans cette solution pendant ≥ 10 minutes. Ses opercules devraient cesser de bouger.
5. Si aucune méthode physique n'est utilisée pour confirmer la mort du poisson, le poisson sera considéré mort > 10 minutes après l'observation des derniers mouvements operculaires.
6. Disposer le poisson conformément aux règlements par rapport aux matières biologiques (CCPA 2005) et de l'eau du contenant ayant servi à l'euthanasie selon le protocole de votre établissement pour les produits chimiques.

Éthanol 95% – La concentration de la solution dans laquelle le poisson sera immergé doit être de 10 à 30 ml d'éthanol 95% L⁻¹ d'eau. Le protocole à utiliser est le même que pour l'huile de clou de girofle. Cette faible concentration induit une anesthésie et l'immersion prolongée produit la mort.

B) Méthodes physiques

Général – Les actions physiques peuvent s'avérer très efficaces lorsque bien promulguées; toutefois, le risque de « rater son coup » est grand si l'on n'est pas habitué à utiliser ces pratiques. Pour éviter de blesser un animal ou soi-même, les utilisateurs doivent être bien formés. Il est recommandé de pratiquer les méthodes physiques sur des poissons préalablement anesthésiés (*ie.* avec une solution d'huile de clou de girofle) ou euthanasiés avant d'être à l'aise avec la procédure.

Broyage – Cette méthode très simple peut être utilisée pour les poissons < 2 cm (CCPA 2010). Il suffit de déchiqueter rapidement le poisson; un mélangeur de

cuisine fait très bien l'affaire. Bien que la mort soit presque instantanée, cette méthode peut être difficile à accomplir pour certains.

Décapitation suivie du jonchage – Sectionnement de la tête suivi du jonchage du cerveau en utilisant une sonde pointue. Insérer la sonde dans le cerveau et plantez-la à plusieurs reprises pour assurer une destruction du tissu cérébral (jonchage simple). La sonde peut être insérée dans la colonne vertébrale pour détruire la moelle épinière (jonchage double). La décapitation seule n'est pas une méthode d'euthanasie acceptable.

Dislocation cervicale suivie du jonchage – Même principe que la méthode précédente, sauf que la tête est toujours physiquement attachée au reste du corps.

Coup porté à la tête suivi du jonchage – Le poisson est assommé avant la destruction du cerveau/moelle épinière par jonchage.

Refroidissement rapide – Cette méthode est acceptable pour les petits poissons (< 3.8 cm) tropicaux ou subtropicaux chez qui la température minimale assurant leur survie est > 4°C. Une recherche sur la biologie du poisson est donc nécessaire a priori.

1. Transférer le poisson de son aquarium rapidement vers un contenant rempli d'eau à une température située entre 2 et 4 °C. Utiliser une épuisette de façon à transférer le moins d'eau possible.
2. Le poisson ne devrait pas être directement en contact avec la glace.
3. Le poisson adulte sera considéré mort > 10 minutes après l'observation des derniers mouvements operculaires. Les alevins requièrent > 20 minutes après l'observation des derniers mouvements operculaires.

C) Méthodes non acceptables

À ne pas faire – Les méthodes suivantes sont à proscrire pour euthanasier les poissons, car elles font souffrir ces organismes inutilement :

1. Plonger directement le poisson dans une solution d'alcool >70%.
2. Mettre le poisson vivant directement au congélateur.
3. Mettre le poisson directement à bouillir.
4. Sortir le poisson de l'eau et le laisser mourir d'hypoxie secondaire à la dessiccation des branchies.

Les invertébrés aquatiques

Général – Les invertébrés aquatiques peuvent être euthanasiés avec les mêmes méthodes que celles proposées précédemment pour les poissons. On suggère l'immersion des invertébrés dans 0.125 ml d'huile de clou de girofle ·L⁻¹ d'eau pour les crustacés ou dans une solution d'une concentration de 1% à 5% d'éthanol 95% pour d'autres groupes d'invertébrés. L'utilisation de sels de magnésium peut aussi être envisagée, mais est non efficace pour les crustacés. Encore une fois, il est nécessaire de laisser les invertébrés dans la solution pour une période prolongée, car autrement ces substances n'agiront que comme anesthésiant. Comme il est souvent difficile de juger de la mort de ces organismes, il est conseillé de faire suivre l'immersion des organismes par leur jonchage, leur congélation, leur immersion dans le formol (10%) ou l'alcool (70%) ou encore par leur mise à bouillir (AVMA 2013).

Autres organismes

Pour les reptiles, les amphibiens et les mammifères, il vaut mieux se référer à un vétérinaire ou porter l'animal en question à la SPCA, car ce sont les méthodes par injection qui sont les plus efficaces et les moins souffrantes.

4. Protocoles de disposition

Animaux, algues et plantes aquatiques

Ces organismes devraient être mis aux poubelles (Habitattitude, 2015). Pour les animaux, on doit bien évidemment s'assurer de leur mort avant d'en disposer. Il est donc très important de suivre les protocoles présentés ci-haut. Ne disposez jamais de ces organismes par les égouts (toilettes, éviers) ou directement dans un cours d'eau.

Eau d'aquarium

L'eau d'aquarium peut contenir des fragments d'algues et de plantes aquatiques, des œufs et des bactéries et virus susceptibles d'affecter la flore et la faune. Déversés dans les égouts, ces éléments peuvent facilement se retrouver dans le milieu naturel puisque certains d'entre eux déversent leur contenu directement dans les cours d'eau, particulièrement lors d'averses de pluie (UICN, 2015). Des fragments d'algues et de plantes aquatiques peuvent d'ailleurs souvent reformer des organismes entiers lorsque les conditions le

permettent; il ne faut donc jamais oublier la capacité de régénération des plantes!

Si possible, déversez l'eau de votre aquarium sur de la terre sèche loin des cours d'eau. Vous pouvez aussi arroser les plantes d'intérieur de votre établissement avec cette eau, qui est une excellente méthode de valorisation. Cette eau est d'ailleurs plus nutritive que l'eau du robinet (Bernier, G.)

5. Remerciements

Nous tenons à remercier tous les conseillers pédagogiques, enseignants et techniciens en travaux pratiques ayant donné de leur temps pour mener à bien ce protocole. Vos suggestions ont été fort utiles pour bien adapter le contenu à vos besoins! Un merci tout spécial à Mme Aurore Dodelet-Devillers, (DVM, MSC, Résidente Animaux de Laboratoire McGill/Université de Montréal) qui a généreusement donné de son temps pour relire et commenter ce protocole.

Pour toutes questions, contactez-nous, c'est avec plaisir que nous vous répondrons!

Conseil québécois des espèces exotiques envahissantes

CQEEE, C.P. 85015
Mont-Saint-Hilaire, QC
J3H 5W1
CQEEES@gmail.com

6. Références

- Anderson W.G., McKinley R.S. & Colavecchia M. (1997). The use of clove oil as an anesthetic for rainbow trout and its effects on swimming performance. *North American Journal of Fisheries Management*, 17, 301-307. <http://uwrl.usu.edu/publications/Finished/Clove%20Oil%20As%20A%20Fish%20Anesthetic.pdf>
- AVMA (2013). AVMA guidelines for the euthanasia of animals: 2013 edition. In. American Veterinary Medical Association Schaumburg, IL. <https://www.avma.org/kb/policies/documents/euthanasia.pdf>
- Bernier, G. (2015). L'eau des poissons pour les plantes. En ligne : <http://www.jardinage.net/trucs-et-conseils/?id=l-eau-des-poissons-pour-les-plantes>. Consulté le 12 février 2015.
- Borski R.J. & Hodson R.G. (2003). Fish research and the institutional animal care and use committee. *ILAR Journal*, 44, 286-294. <http://ilarjournal.oxfordjournals.org/content/44/4/286.abstract>
- CCPA (2005). Lignes directrices sur: le soin et l'utilisation des poissons en recherche, en enseignement et dans les tests. In. Conseil canadien de protection des animaux Ottawa, ON. http://ccac.ca/Documents/Normes/Lignes_directrices/Poissons.pdf
- CCPA (2010). Lignes directrices du CCPA sur: l'euthanasie des animaux utilisés en science. In: Ottawa, ON. http://ccac.ca/Documents/Normes/Lignes_directrices/Euthanasie.pdf
- CCPA (2015). À propos des Trois R. En ligne : <http://3rs.ccac.ca/fr/a-propos/trois-r.html#rp>. Consulté le 12 février 2015.
- Habitattitude (2015). Habitudes et prévention. En ligne: <http://habitattitude.ca/accueil-2/>. Consulté le 12 février 2015.
- Robinson V. (2005). Finding alternatives: an overview of the 3Rs and the use of animals in research. *School Science Review*, 87, 111-114. <http://www.nc3rs.org.uk/downloaddoc.asp?id=348&page=7&skin=0>
- RSPCA (2015). What is the most humane way to euthanase aquarium fish? En ligne: http://kb.rspca.org.au/What-is-the-most-humane-way-to-euthanase-aquarium-fish_403.html. Consulté le 12 février 2015.
- UICN (2015). Menace en mer – les espèces exotiques envahissantes dans l'environnement marin? En ligne : http://www.issg.org/pdf/publications/marine_menace_french.pdf. Consulté le 12 février 2015.