



Information technique expérimentation animale

Euthanasie des animaux de laboratoire correcte et conforme à la protection des animaux 3.01

Souris, rat, hamster, cobaye, lapin, poisson-zèbre, xénope

| | | |
|---|--|----|
| 1 | Objectif | 1 |
| 2 | Bases légales | 2 |
| 3 | Principes et responsabilités | 3 |
| 4 | Méthodes d'euthanasie admises | 4 |
| 5 | Méthodes d'euthanasie admises sous conditions | 5 |
| 6 | Méthodes pour s'assurer de la mort de l'animal | 7 |
| 7 | Substances, gaz et méthodes non admises | 8 |
| 8 | Formation, information, publications | 9 |
| 9 | Législation | 11 |

1 Objectif

La présente information technique s'adresse aux autorités responsables de l'expérimentation animale, à leurs commissions consultatives ainsi qu'à toutes les personnes impliquées dans l'expérimentation animale, pratiquant des expériences sur animaux ou en sont responsables.

En manipulant les animaux de laboratoire avec ménagement et en les euthanasiant de manière correcte, on assure à chaque animal utilisé à des fins expérimentales d'être traité avec ménagement et soin jusqu'à sa mort. Cela contribue efficacement à la protection des animaux et à maintenir la contrainte la plus faible possible sur les animaux. L'amélioration continue des méthodes d'euthanasie constitue une exigence importante dans la mise en œuvre des principes des 3R.

Cette information technique indique où trouver des informations sur l'euthanasie correcte et respectueuse des animaux de laboratoire, et quelles méthodes d'euthanasie sont admises, admises sous conditions, ou ne sont pas admises.

Les méthodes d'euthanasie présentées dans cette information technique ne correspondent pas toutes à la définition de l'euthanasie (chapitre 4). Mais pour des raisons de simplicité, on n'utilisera ici que le terme « euthanasie ».

2 Bases légales

- 2.1 Il est interdit de mettre à mort des animaux de façon cruelle (art. 26, al. 1, LPA).
- 2.2 Tout vertébré doit être étourdi au moment de sa mise à mort. Si l'étourdissement n'est pas possible, toutes les dispositions utiles doivent être prises pour réduire à un minimum les douleurs, la souffrance et l'anxiété (art. 178, al. 1, OPAn).
- 2.3 Personne ne doit de façon injustifiée causer à des animaux des douleurs, des maux ou des dommages, les mettre dans un état d'anxiété ou porter atteinte à leur dignité d'une autre manière (art. 4, al. 2, LPA). Des douleurs, des maux, des dommages ou un état d'anxiété ne peuvent être imposés à un animal que si le but de l'expérience ne peut être atteint d'une autre manière (art. 20, al. 1, LPA).
- 2.4 Seules des personnes compétentes en la matière sont autorisées à mettre à mort des vertébrés et des décapodes marcheurs (art. 177 OPAn). Par « compétentes », on entend les personnes qui ont eu la possibilité d'acquérir sous la direction et la surveillance d'un spécialiste les connaissances et l'expérience pratique nécessaires à la mise à mort d'un animal et qui mettent régulièrement à mort des animaux.
- 2.5 Les expériences qui peuvent causer aux animaux des douleurs, des maux ou des dommages, les mettre dans un état d'anxiété, perturber notablement leur état général ou porter atteinte à leur dignité d'une autre manière doivent être limitées à l'indispensable (art. 17 LPA).
- 2.6 Si après une intervention ou une mesure, les douleurs, les maux, les dommages ou l'anxiété persistent chez l'animal, ce dernier doit être mis à mort aussitôt que le but visé par l'expérience le permet, mais au plus tard lorsque les critères d'arrêt de l'expérience sont remplis. (art. 135, al. 7, OPAn).
- 2.7 La mise à mort ne doit pas être pratiquée dans les locaux où sont détenus les animaux (art 135, al. 9, OPAn).

3 Principes et responsabilités

- 3.1 L'euthanasie fait partie intégrante de l'expérimentation animale.
- 3.2 Seules des méthodes d'euthanasie respectant les bonnes pratiques, conformes à la protection des animaux (méthodes d'euthanasie admises, chapitre 4) peuvent être utilisées. Il faut une justification fondée pour obtenir l'autorisation pour les méthodes d'euthanasie admises sous conditions (chapitre 5). Pour les méthodes non admises (chapitre 7), aucune exception n'est autorisée.
- 3.3 Renoncer à une méthode d'euthanasie qui permet de réduire à un minimum la contrainte imposée aux animaux peut entraîner le classement de l'expérience dans un degré de gravité supérieur. Il en sera tenu compte dans la pesée des intérêts.
- 3.4 Il est nécessaire d'avoir des connaissances spécifiques en matière d'euthanasie. Il existe diverses offres de formation et d'information pour se former et se perfectionner sur le sujet. Il convient d'élargir constamment ses connaissances et de les maintenir à jour. Une sélection d'offres de formation et d'informations est présentée au chapitre 8.
- 3.5 Une attention particulière doit être portée aux points suivants :

Il convient d'éviter de mettre l'animal dans un état d'anxiété ou dans des situations stressantes, ou de réduire autant que possible la durée de cette situation contraignante si celle-ci ne peut être évitée. Les méthodes qui n'exigent pas la contention de l'animal ou qui exigent seulement une contention brève et non éprouvante sont donc préférables. On peut ainsi éviter ou du moins réduire à un minimum les éventuelles réactions de défense, l'agressivité ou l'excitation.

Il convient d'éviter les grands déplacements jusqu'au lieu où se déroule l'euthanasie. Pour les animaux, cela peut engendrer un stress plus important que l'euthanasie elle-même.

Les animaux doivent rester sous surveillance durant l'euthanasie, de manière à pouvoir intervenir immédiatement si nécessaire. Aucun obstacle visuel ne doit empêcher la surveillance de tous les animaux se trouvant dans la cage ou le conteneur.

Les animaux ne doivent être éliminés qu'après avoir établi le constat de la mort. Il faut s'assurer que chaque animal est vraiment mort en vérifiant la présence des signes évidents de la mort. Pour s'assurer de la mort d'animaux anesthésiés, il faut le cas échéant recourir à une mesure supplémentaire avant de les éliminer (chapitre 6).

- 3.6 L'anesthésiologie comprend également le domaine de l'euthanasie. Les experts en anesthésie et analgésie (ECVAA¹, ACVAA²) sont de très bons interlocuteurs pour les questions relatives à l'euthanasie, tout comme les experts en médecine des animaux de laboratoire (ECLAM³, ACLAM⁴). Idéalement, ils seront consultés déjà au moment de la planification des expériences.
- 3.7 C'est aux directeurs d'expérience de veiller à ce que le choix, la planification et l'exécution de l'euthanasie soient les meilleurs possibles, et à la qualification des personnes qui exécutent l'euthanasie.
- 3.8 Mal exécutée, même une méthode d'euthanasie conforme à la protection des animaux peut constituer une contrainte pour les animaux. Il faut donc s'entraîner à la pratiquer en présence d'une personne expérimentée.
- 3.9 Les autorités doivent contrôler l'euthanasie des animaux (méthodes, mode d'exécution, manière de traiter les animaux, possibilité de voir et d'observer les animaux dans les chambres et cages d'euthanasie, appareils, locaux, niveau de formation des personnes qui pratiquent les euthanasies).

¹ ECVAA European College of Veterinary Anaesthesia and Analgesia

² ACVAA American College of Veterinary Anaesthesia and Analgesia

³ ECLAM = European College of Laboratory Animal Medicine

⁴ ACLAM = American College of Laboratory Animal Medicine

4 Méthodes d'euthanasie admises

Sont admises les méthodes qui garantissent que les animaux sont inconscients lorsqu'ils sont euthanasiés. Elles correspondent à la définition de l'euthanasie. Entrent dans cette catégorie l'euthanasie par surdosage de pentobarbital et l'euthanasie d'animaux sous anesthésie générale.

4.1 Le pentobarbital est l'anesthésique de choix pour l'euthanasie des souris, des rats, des hamsters, des cobayes, des lapins et des xénopes.

Le dosage adéquat peut être trouvé dans les publications spécialisées ou obtenu auprès d'experts.

Le cas échéant, le pentobarbital doit être dilué avant d'être administré pour en diminuer la viscosité et permettre un dosage précis.

Il est essentiel de veiller à ce que les animaux aient atteint une profondeur d'anesthésie suffisante pour une intervention chirurgicale avant de les saigner ou de les perfuser, ou de leur prélever des organes.

Chez les souris, rats, hamsters, cobayes, et lapins jusqu'à l'âge de deux semaines, ainsi que chez les xénopes, le pentobarbital est injecté au niveau intrapéritonéal ou dans le cœlome.

Chez les lapins âgés de plus de deux semaines, il faut administrer le pentobarbital exclusivement par voie intraveineuse.

| | |
|---------|---------------|
| Souris | Pentobarbital |
| Rat | |
| Hamster | |
| Cobaye | |
| Lapin | |
| Xénope | |

4.2 Pour l'anesthésie générale des souris, des rats, des hamsters, des cobayes et des lapins avant l'euthanasie, il est possible d'utiliser des anesthésiques en inhalation ou par injection. S'ils sont anesthésiés au préalable de manière correcte, les animaux peuvent être euthanasiés selon des méthodes qui ne sont pas admises pour les animaux conscients (p. ex. décapitation, perfusion, pneumothorax bilatéral). La mort doit survenir sous anesthésie chirurgicale et survenir à coup sûr.

Le dosage adéquat peut être trouvé dans les publications spécialisées ou obtenu auprès d'experts.

Le cas échéant, ces anesthésiques doivent être dilués pour garantir un dosage précis.

Il est essentiel de veiller à ce que les animaux aient atteint une profondeur d'anesthésie suffisante pour une intervention chirurgicale avant de les saigner ou de les perfuser.

| | |
|---------|--|
| Souris | Euthanasie sous anesthésie par inhalation ou par injection |
| Rat | |
| Hamster | |
| Cobaye | |
| Lapin | |

5 Méthodes d'euthanasie admises sous conditions

Les méthodes d'euthanasie admises sous conditions entraînent également la mort certaine de l'animal. Mais pour certaines méthodes, il manque toutefois des connaissances établies concernant leurs effets sur les animaux du point de vue de la protection des animaux : les animaux sont-ils inconscients ? Comment perdent-ils conscience et en combien de temps ? Cela vaut particulièrement pour les poissons. L'utilisation de méthodes d'euthanasie admises sous conditions doit être dûment justifiée. Cela peut entraîner la classification de l'expérience dans un degré de gravité supérieur. Il en sera tenu compte dans la pesée des intérêts.

- 5.1 Des découvertes récentes remettent en question le dioxyde de carbone (CO₂) du point de vue de la protection des animaux (Hawkins et al 2016, Axiak Flammer et al 2019, Steiner et al 2019). Cependant, il n'existe pas encore de méthode alternative pour l'euthanasie de grands groupes d'animaux.

Chez les souris et les rats à partir de l'âge de deux semaines, l'euthanasie par inhalation de CO₂ est admise sous conditions à titre de solution transitoire.

Pour l'inhalation du CO₂, les animaux sont placés dans un conteneur transparent fermé. Idéalement, ils sont laissés dans leur cage habituelle. Les animaux doivent rester suffisamment longtemps dans ce conteneur. Le taux de remplissage et la durée de séjour des animaux dans le conteneur doivent être choisis en fonction de l'espèce. On trouve des recommandations dans des publications. En sortant les animaux du conteneur, il faut contrôler que chaque animal est vraiment mort en s'appuyant sur la présence de signes évidents de la mort.

| | |
|-------------------------------|--------------------------------------|
| Souris à partir de 2 semaines | CO ₂ (dioxyde de carbone) |
| Rat à partir de de 2 semaines | |

- 5.2 Par « décapitation », on entend le fait de sectionner le cou entre la moitié crâniale du cou et la tête au moyen d'un instrument tranchant.

Il faut utiliser les instruments spécialement conçus à cet effet (guillotines) pour s'assurer que les tissus sont sectionnés rapidement, correctement et au bon endroit. Une prudence particulière est de mise pour que le couteau sectionne le cou des animaux près de la tête. Chez les souris jusqu'à l'âge de deux semaines, il est également possible de sectionner la tête d'un coup de ciseaux rapide et puissant.

Chez les souris et les rats âgés de plus de deux semaines, la décapitation sans anesthésie ne peut être admise que dans des cas exceptionnels dûment fondés.

| | |
|---------------------------|------------------------------|
| Souris jusqu'à 2 semaines | Décapitation sans anesthésie |
| Rat jusqu'à 2 semaines | |

- 5.3 En cas de dislocation cervicale (rupture de la nuque), il y a déboîtement entre le crâne et la partie supérieure de la colonne vertébrale. Correctement exécutée, la dislocation cervicale provoque une section de la moelle épinière. Toutefois, si l'interruption des voies nerveuses n'est pas rapide et complète, la dislocation cervicale est douloureuse pour l'animal. La tétraplégie, la paraplégie et les traumatismes de la colonne vertébrale ne conduisent pas à la perte de conscience et à la mort rapide des animaux.

Les gros vaisseaux sanguins conduisant vers la tête ne sont pas toujours sectionnés lors de la dislocation cervicale. Les animaux doivent donc être saignés immédiatement après la rupture de la nuque en incisant les gros vaisseaux sanguins cervicaux. La saignée par incision de l'aorte ou d'autres vaisseaux sanguins qui ne sont pas accessibles sans une intervention chirurgicale préalable, ainsi que l'ouverture de l'abdomen ou de la cage thoracique pour prélever des organes avant la saignée ne sont pas autorisées.

Chez les souris et les rats âgés de plus de deux semaines, la dislocation cervicale sans anesthésie, avec saignée avant toute manipulation, ne peut être admise que dans des cas exceptionnels dûment fondés.

| | |
|---------------------------|--|
| Souris jusqu'à 2 semaines | Dislocation cervicale sans anesthésie avec saignée |
| Rat jusqu'à 2 semaines | |

- 5.4 La question de l'acceptabilité de l'étomidate, du métomidate, du tribromoéthanol, du phénoxyéthanol, du méthanesulfonate de tricaine (MS222) et de l'eau glacée pour euthanasier les poissons-zèbres, les larves de poissons-zèbres et les têtards reste ouverte du point de vue de la protection des animaux. On ne sait notamment pas si les animaux perdent conscience et en combien de temps.

| | |
|-------------------------|---|
| Poisson-zèbre | Étomidate, métomidate, tribrométhanol, phénoxyéthanol, méthanesulfonate de tricaine (MS222) |
| Larves de poisson-zèbre | |
| Têtards | |
| Poisson-zèbre | Eau glacée avec décapitation |

6 Méthodes pour s'assurer de la mort de l'animal

Le constat de la mort de chaque animal doit être établi en vérifiant la présence des signes évidents de la mort avant d'éliminer l'animal.

Après avoir utilisé des méthodes d'euthanasie admises ou admises sous conditions, diverses méthodes peuvent être utilisées si la mort doit être assurée par une deuxième méthode. Le choix de la méthode dépend de l'espèce. Exemples :

| | |
|--------|---|
| Souris | Décapitation, saignée, perfusion, pneumothorax bilatéral sous anesthésie chirurgicale |
| Rat | |

7 Substances, gaz et méthodes non admises

Pour diverses raisons, certaines substances, gaz et méthodes ne sont pas admis:

- il existe des méthodes d'euthanasie admises ou admises sous conditions
- ils n'entraînent pas l'inconscience avant l'euthanasie
- la mort ne survient pas ou pas immédiatement et sans douleurs, maux et anxiété
- des aspects liés à la sécurité au travail doivent être pris en compte

Éther, chloroforme, T61, benzodiazépine, hydrate de chloral, α -chloralose, uréthane, relaxants musculaires, insuline, huile essentielle de clou de girofle, acides, bases, des substances osmotiquement actives

CO₂ (dioxyde de carbone) pour les hamsters, les cobayes, les lapins, les poissons-zèbres et les xénopes, ainsi que chez les souris et les rats jusqu'à l'âge de deux semaines, CO (monoxyde de carbone)

Administration d'anesthésiques par voie orale, intramusculaire, rectale, rétrobulbaire et intracérébrale ; injection d'air par voie intravasculaire et intracardiaque

Décapitation de souris et de rats non anesthésiés à partir de l'âge de deux semaines, hamsters, cobayes, lapins, poissons-zèbres ; décapitation de xénopes sans destruction du cerveau et de la moelle épinière

Taper les animaux contre une arête ou contre le sol; étourdissement par un coup

Irradiation de l'ensemble du corps par des micro-ondes

Application d'un courant électrique

Mise à l'air libre des poissons

Hyperthermie chez les poissons et les xénopes

Eau glacée sans décapitation chez les poissons-zèbres, congélation des poissons-zèbres, larves de poissons-zèbres, xénopes et têtards (par ex. à -20°C, -80°C, -120°C, -180°C et dans l'azote liquide)

8 Formation, information, publications

Amendola L and Weary DM - 2020 - Understanding rat emotional responses to CO₂. *Transl Psychiatry* 10:253 <https://doi.org/10.1038/s41398-020-00936-w>

Axiak Flammer S et al - 2019 - Alternatives to carbon dioxide - taking responsibility for humanely ending the life of animals. *Animals* 9:482 <https://doi.org/10.3390/ani9080482>

AVMA - 2020 - Guidelines for the euthanasia of animals <https://www.avma.org/sites/default/files/2020-01/2020-Euthanasia-Final-1-17-20.pdf>

Conlee KM et al - 2005 - Carbon dioxide for euthanasia: Concerns regarding pain and distress, with special reference to mice and rats. *Lab Anim* 39:137-61 <http://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1258/0023677053739747>

Cressey D - 2012 - Rodent euthanasia methods under scrutiny. *Nature* Dec 19 <http://www.nature.com/news/rodent-euthanasia-methods-under-scrutiny-1.12083>

Cressey D - 2013 - Best way to kill lab animals sought. *Nature* Aug 6 <http://www.nature.com/news/best-way-to-kill-lab-animals-sought-1.13509>

Cressey D - 2014 - Fish-kill method questioned. *Nature* Feb 25 <http://www.nature.com/news/fish-kill-method-questioned-1.14768>

FLAIRE Learning - 2017 - Humane methods of killing laboratory animals <https://www.nc3rs.org.uk/euthanasia>

Grens K - 2014 - To kill a lab rat. *The Scientist* Nov 4 <http://www.the-scientist.com/?articles.view/articleNo/41378/title/To-Kill-a-Lab-Rat/>

Hawkins P et al - 2006 - Newcastle Consensus Meeting of carbon dioxide euthanasia of laboratory animals <https://www.nc3rs.org.uk/sites/default/files/documents/Events/First%20Newcastle%20consensus%20meeting%20report.pdf>

Hawkins P et al - 2016 - A good death? Report of the second Newcastle Meeting on laboratory animal euthanasia <https://www.nc3rs.org.uk/news/report-second-newcastle-meeting-laboratory-animal-euthanasia>

Köhler A et al - 2017 - Report of Workshop on euthanasia for zebrafish - a matter of welfare and science. *Zebrafish* Oct 2 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28968196>

Lalonde-Robert V et al - 2012 - Electroencephalographic and physiologic changes after tricaine methanesulfonate immersion of African clawed frogs (*Xenopus laevis*). *J Am Assoc Lab Anim Sci* 51:622-7 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3447452/pdf/jaalas2012000622.pdf>

Matthews M and Varga ZM - 2012 - Anesthesia and euthanasia in zebrafish. *ILAR J* 53:192-204 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23382350>

Moody CM et al - 2014 - The effect of carbon dioxide flow rate on the euthanasia of laboratory mice. *Lab Anim* 48:298-304

NC3Rs - 2013 - Euthanasia <https://www.nc3rs.org.uk/euthanasia>

Steiner A et al - 2019 - Humanely ending the life of animals: Research priorities to identify alternatives to CO₂. *Animals* 9:911 <https://doi.org/10.3390/ani9110911>

Strykowski JL and Schech JM - 2015 - Effectiveness of recommended euthanasia methods in larval Zebrafish (*Danio rerio*) *J Am Assoc Lab Anim Sci* 54:81-4 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25651096>

Torreilles SL et al - 2009 - Evaluation and refinement of euthanasia methods for *Xenopus laevis*. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 48:512-6 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2755021/pdf/jaalas2009000512.pdf>

Turner PV et al - 2020 - Welfare Impact of Carbon Dioxide Euthanasia on Laboratory Mice and Rats: A Systematic Review. *Front Vet Sci* July 22 <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00411>

Wilson JM et al - 2009 - Evaluation of rapid cooling and tricaine methanesulfonate (MS222) as methods of euthanasia in zebrafish (Danio rerio). J Am Assoc Lab Anim Sci 48:785-9
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2786934/pdf/jaalas2009000785.pdf>

Hawk TC et al - 2005 - Formulary for laboratory animals. 3rd edition. Blackwell Publishing
<https://norecopa.no/textbase/formulary-for-laboratory-animals>

9 Législation

Loi sur la protection des animaux (LPA) du 16 décembre 2005 (RS 455), état au 1^{er} mai 2017

| | |
|--------------------|--|
| Art. 4 LPA | Principes |
| Art. 16 LPA | |
| Art. 20 LPA | Exécution des expériences |
| Art. 21 LPA | |
| Art. 26 LPA | Mauvais traitements infligés aux animaux |
| Art. 40 LPA | Haute surveillance de la Confédération |

Ordonnance sur la protection des animaux (OPAn) du 23 avril 2008 (RS 455,1), état au 20 mars 2018

| | |
|----------------------|--|
| Art. 4 OPAn | Alimentation |
| Art. 60 OPAn | Fourrage et soins |
| Art. 113 OPAn | Dérogations admises aux dispositions de la présente ordonnance |
| Art. 132 OPAn | Conditions posées au directeur de l'expérience |
| Art. 134 OPAn | Conditions posées à l'expérimentateur |
| Art. 135 OPAn | Exécution des expériences |
| Art. 137 OPAn | Critères d'évaluation du caractère indispensable des expériences causant des contraintes aux animaux |
| Art. 139 OPAn | Procédure d'autorisation |
| Art. 177 OPAn | Conditions posées aux personnes qui mettent à mort ou abattent des animaux |
| Art. 178 OPAn | Étourdissement obligatoire |

OFFICE FÉDÉRAL DE LA SÉCURITÉ ALIMENTAIRE ET DES AFFAIRES VÉTÉRINAIRES