

## INFLUENCE DE L'ANESTHESIE SUR QUELQUES PARAMETRES SANGUINS CHEZ LE LOUP D'ELEVAGE *Dicentrarchus labrax* L. (1758)

KHALFALLAH, N.

Institut National Scientifique et Technique D'Océanographie et de Pêche.

### ملخص

ان استعمال المخدرات عملية متداولة بمزارع الاسماك خلال الدراسات العلمية المتعلقة بالاستكشاف الدموي. غير ان هذه الاستعلامات تعتبر مرهقة بالنسبة للاسماك وينجر عنها تغيرات في بعض المكونات الدموية حسب نوعية المخدر وفصيلة الاسماك والظروف البيئية. تتمحور هذه الدراسة حول تجربتين تخصصان دراسة مفعول مادة "الفينوكسيل اطانول" على بعض العناصر الدموية لدى سمك القاروص المربي *"Dicentrarchus labrax"* حيث ان حالة التخدير اعتبرت كلية في المرحلة الرابعة بعد حوالي 7 الى 10 دقائق من التخدير بنسبة 1/500. الارتفاع العام في نسبة السكريات في الدم في كلتا التجربتين يبرز ان استعمال هاته المادة مرهق جدا بالنسبة لسمك القاروص في مرحلة ما قبل السنتين (السنة الاولى) وفي حرارة 18 درجة غير انه في المقابل لا يتسبب في حالات الاختناق.

### RESUME

L'utilisation des anesthésiques est une pratique très courante dans les fermes aquacoles et lors d'études scientifiques faisant à l'exploration sanguine. Or, cette pratique est stressante pour le poisson et elle modifie un certain nombre de paramètres sanguins en fonction de l'anesthésique, des espèces et des conditions du milieu.

Deux essais ont été effectués afin de connaître l'influence du phénoxy-éthanol sur certains paramètres sanguins chez le loup d'élevage *Dicentrarchus labrax*. L'anesthésie est considérée totale au stade IV, ce stade est atteint de 7 à 10 minutes d'exposition à une concentration de 1/5000.

L'augmentation très hautement significative de la glycémie dans les deux essais démontre que l'anesthésique utilisé est stressant pour le loup au stade de pré grossissement O+ et à 18°C. Par contre il ne provoque pas de situation hypoxique pour les poissons.

**Mots clés:** Stress- Anesthésie- Paramètres sanguins- Loup- Aquaculture.

### ABSTRACT

Using anaesthetics is very common in fish farming and in scientific studies based on blood exploration. Well, practis is stressful for fish and it introduces a change on some blood parameters. This change depends from drug, species and environmental conditions.

Two trials were effected for determinize phenoxy-ethanol effects on some blood parameters in the culture sea bass *Dicentrarchus labrax*. Anesthesia is considered complete at stage IV; this stage reaches between 7 at 10 minutes by 1/5000 for concentration .

The high growth of glycemia in the two essays shows that anaesthetic used is stressful for the sea bass in age O+ and at temmpérature of 18°C. But this anaesthetic isn't hypoxic for fishes.

## I - INTRODUCTION

L'intérêt de tranquilliser ou d'endormir temporairement les poissons, animaux particulièrement insaisissables dans leur milieu, a été reconnu depuis longtemps. L'anesthésie des poissons est pratiquée afin de les immobiliser, d'abaisser leur métabolisme, de diminuer la douleur et le choc des expériences.

Plusieurs anesthésiques sont communément utilisés en aquaculture (le MS 222, la benzocaïne, la quinaldine, le phénoxéthol...) afin de faciliter les diverses manipulations (tris, pesée, transfert, transport...). Alors que les études réalisées (Wedemeyer, 1970; Brousse, 1974; Oikari et Soivio, 1975; Guerin-Ancy, 1976; Soivio et al, 1977; Smit et al, 1979; Messenger et Aldrin, 1980; Escoubet, 1982; Davis et al, 1982; Thomas et al, 1991...) sur l'influence de ces anesthésiques sur les poissons ont montré que suivant le produit, sa concentration et la durée de l'exposition, la mise en oeuvre de l'anesthésie s'avère plus ou moins stressante.

Par ailleurs, pour certaines études en laboratoire ou dans des fermes aquacoles des prises de sang doivent être effectuées sur des poissons vivants. La cathérisation est la technique la plus sûre pour la fiabilité des valeurs des paramètres sanguins. Seulement, elle n'est pas toujours utile et commode à utiliser pour ces raisons et par facilité, l'anesthésie est souvent pratiquée. Or, des recherches sur certaines espèces, dans des conditions définies, ont montré que l'anesthésie fausse les résultats de certains paramètres sanguins. Il importe donc, de choisir la méthode qui perturbe le moins ces paramètres.

Dans le but d'étudier cette éventuelle influence chez le loup, nous avons comparé des poissons anesthésiés à des poissons étourdis par un coup sur le crâne.

## II - MATERIEL ET METHODES

### Matériel

Les expériences sont réalisées sur des loups d'élevage *Dicentrarchus labrax* L. 1758 au stade de pré grossissement O+. Initialement, les poissons sont répartis à charge à peu près égale dans huit bacs identiques (volume: 300L) afin d'éliminer "l'effet bac". Ces bacs sont disposés dans une zone d'expérimentation donc ils sont tenus à l'écart de toute perturbation extérieure.

Les conditions du milieu, sont contrôlées et maintenues stables durant la période de détention précédant l'expérimentation, dans les huit bacs: température = 18°C; salinité = 35‰; oxygène dissous = 7 mg/l; débit = 75% de renouvellement de l'eau à l'heure.

Deux essais ont été réalisés pour la même expérience afin de s'assurer des résultats. A chaque essai 64 poissons sont échantillonnés. Ils ont un poids moyen de 25 g au premier essai et de 31 g au second essai.

## Protocole expérimental

L'anesthésique que nous testons est le phénoxy-éthanol (ou phénoxéthol) qui est conseillé dans le cas de manipulations rapides, il ne provoque des phénomènes d'excitation chez certains poissons qu'à faibles doses 1/10000 (Brousse, 1974).

32 poissons sont pris par lots de quatre dans les huit bacs et sont immédiatement étourdis par un coup sur le crâne. 32 autres sont placés également par lots de quatre dans une cuve de 60 l contenant 30 l d'eau de mer (à la température initiale de 18°C) et du phénoxy-éthanol à la dose de 1/5000. Le stade IV de l'anesthésie (McFarland, 1959) est atteint de 7 à 10 minutes en fonction de la taille du poisson, c'est à ce stade que les prises de sang sont effectuées dans le canal de Cuvier (Sano, 1960) avec une seringue de 1 ml. Dans le but d'éliminer l'influence de l'alimentation sur les paramètres sanguins, les poissons ont été maintenus à jeun durant 48 heures (Messenger et Aldrin, 1980). Ils sont pesés individuellement après la prise de sang.

## les analyses

Les analyses sur le sang total sont effectuées immédiatement après la prise de sang dans un délai ne dépassant pas 15 min, afin d'éviter les variations "in vitro" (Oikari et Soivio, 1975). Le sang restant est centrifugé et conservé à - 20°C pour les analyses plasmatiques. Les analyses hématologiques et plasmatiques sont effectuées selon les conditions et les techniques précédemment décrites (Hadj Kacem/ Khalfallah et al, 1986).

Les paramètres étudiés sont: la numération des Erythrocytes (Er), le taux d'Hémoglobine (Hb), l'Hématocrite (Ht) et le test du leucocrite.

Les Er, Hb et Ht permettent le calcul des constantes érythrocytaires (Seiverd, 1964): le Taux Globulaire Moyen en Hémoglobine (TGMH), la Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine (CCMH), le Volume Globulaire Moyen (VGM).

Le paramètre plasmatique choisi est le glucose, car il est admis qu'il est un des paramètres secondaire de la réponse du stress qui soit le plus sensible aux modalités de manipulations des poissons.

Les moyennes et variances des groupes de poissons, anesthésiés et étourdis, sont calculées. La comparaison des moyennes est réalisée par le test "T" de Student.

### III - RESULTATS

	PREMIER ESSAI			DEUXIEME ESSAI		
	P. Anesthésiés	Test "T"	P. Assommés	P. Anesthésiés	Test "T"	P. Assommés
Nbr. Er en $10^6/\text{mm}^3$	X	2.23	NS	2.24	NS	2.56
	$\Gamma$	2.26		0.55		0.48
	n	32		32		30
Ht en %	X	20.8	*	23.5	NS	23.98
	$\Gamma$	2.74		6.46		5.98
	n	32		32		30
Hb en g/100ml	X	4.73	NS	4.66	NS	5.09
	$\Gamma$	0.87		1.29		1.20
	n	32		32		30
V.G.M en $\mu\text{m}^3$	X	93.6	**	102.7	NS	93.17
	$\Gamma$	9.20		14.10		13.68
	n	32		32		30
T.G.M.H en pg	X	21.20	NS	20.90	NS	19.85
	$\Gamma$	2.50		3.20		2.14
	n	32		32		30
C.C.M.H en %	X	22.70	**	20.60	NS	21.70
	$\Gamma$	2.60		3.00		4.00
	n	32		32		30
Leucocrites en %	X	1.24	NS	0.92	NS	0.65
	$\Gamma$	1.00		0.79		0.11
	n	32		32		30
Glycémie en g/l	X	1.24	***	0.56	***	0.59
	$\Gamma$	0.20		0.10		0.12
	n	31		17		28

**Tableau I:** Comparaison de certains paramètres sanguins de poissons anesthésiés et assommés.

X: moyenne-  $\Gamma$ : Ecart type- n: Effectif.

Test "T", niveaux de signification: \* < 5%, \*\* < 1%, \*\*\* < 1%O.

#### Résultats du premier essai

En comparant les moyennes des paramètres étudiés des deux groupes de poissons, nous constatons que:

- les Er, Hb, TGMH et leucocyte ne présentent pas de modifications significatives;
- l'Ht et le VGM des poissons assommés sont significativement plus importants que ceux des poissons anesthésiés, alors que leur CCMH est plus réduite;
- le taux de glucose est nettement supérieur chez les poissons anesthésiés, plus de 121%.

### Résultats du deuxième essai

Seul le glucose plasmatique varie significativement, il augmente de 119%. Tous les autres paramètres étudiés ne présentent pas de changements significatifs.

#### IV - DISCUSSION

Dans les deux essais effectués, le phénoxy-éthanol ne suscite pas le gonflement des Er ce qui concorde avec les résultats de Malmstrom et al (1993) qui ont testé le MS222 et le métomidate chez *Hippoglossus hippoglossus*; alors que Soivio et al (1977) ont noté un gonflement des Er chez les salmonidés anesthésiés aux MS222, MS222 neutralisé et la benzocaïne. Ainsi, il semble que le loup anesthésié au phénoxy-éthanol ne souffre pas d'hypoxie, contrairement à ce qui a été observé chez les salmonidés et d'autres poissons d'eau douce (Baudin, 1932, 1934; Campbell et Davies, 1963; Randall et al, 1965).

De même, l'anesthésie n'a pas engendré chez le loup une hémococoncentration qui a été notée par Smit et al (1979) chez trois espèces d'eau douce anesthésiées au MS222.

L'hyperglycémie des poissons anesthésiés est observée dans les deux essais de façon très marquée, ce qui concorde avec les observations de Wedemeyer (1970); Houston et al (1971 a et b); et de Smit et al (1979).

Cependant, Soivio et al (1977) ont noté une légère hypoglycémie chez des truites anesthésiées au MS222 et à la benzocaïne durant 15 min et à la température de 10°C. Cette différence de comportement pourrait être due à la technique de prélèvement (Soivio et al, 1977) ou à la température basse de l'eau qui retarde le temps de réponse des catécholamines et donc celle de la glycolyse lors du stress (Mazeaud.F, 1965; Mazeaud.M, 1971).

De même, Oikari et Soivio (1975) n'ont pas observé de différences significatives du glucose entre des poissons étourdis et ceux anesthésiés au MS222 en raison probablement du temps très court de l'anesthésie (4 minutes).

Les travaux de Thomas et Robertson (1991) expliquent au mieux ces réponses, ils ont démontré que la réponse de *Sciaenops ocellatus* à l'anesthésie est variable en fonction de l'anesthésique, du temps d'exposition et de la durée de l'agression. Ils ont observé que le MS222, la quinaldine et le métomidate bloquent la réponse biochimique du stress (leurs paramètres d'étude sont le cortisol et le glucose) quand le temps d'exposition de l'anesthésie est court (2 à 6 min). Par contre, si ce temps est plus long (10 à 15 min) le MS222 et la quinaldine provoquent des augmentations du cortisol et de la glycémie; alors que le métomidate bloque encore cette réponse biochimique. Ils sembleraient d'après ces auteurs que ce blocage se fait au niveau des glandes interrénales en annulant la stimulation de ces glandes par l'ACTH (Adeno Cortico Tropic Hormone).

En conclusion, nous pouvons dire que l'anesthésie au phénoxy-éthanol suscite une réponse de stress chez le loup d'élevage révélée par l'augmentation du taux de glucose plasmatique. La méthode qui consiste à étourdir les poissons par un léger coup sur le crâne est donc moins stressante que l'anesthésie pour notre cas d'étude, elle donne une meilleure image de l'état de repos pour les paramètres étudiés. Ce résultat concorde parfaitement avec la conclusion de Chavin et Young (1970) " à cause de l'activité musculaire réduite et du temps court d'échantillonnage, le sang des poissons étourdis par un coup sur le crâne donne une meilleure image du repos que celui des poissons anesthésiés". Toute fois, le phénoxy-éthanol n'a pas eu un effet hypoxique révélé par les valeurs de l'Ht et le V.G.M. des poissons anesthésiés n'ont pas augmenté et celles de la C.C.M.H. n'ont pas diminué de façon significative.

## BIBLIOGRAPHIE

- BAUDIN, L.** (1932). Perte de la sensibilité à la dépression chez les poissons anesthésiés à la tricaine. C.r. Séanc. Soc. Biol., 110: 151-153.
- BAUDIN, L.** (1934). Action de la tricaine sur le sang des poissons. C.r. Séanc. Soc. Biol., 115: 510-512.
- BROUSSE, J.** (1974). L'anesthésie des poissons. Thèse Doct. Vétérinaire, Toulouse n°40, 55pp.
- CAMPBELL, G.D.** and **DAVIES, D.H.** (1963). Effects of ethyl m-aminobenzoate (MS222) on the elasmobranch electrocardiograph. Nature., 198: 302pp.
- CHAVIN, W.** and **YOUNG, J.E.** (1970). Factors in the determination of normal glucose levels of goldfish, *Carassius auratus*. Comp. Biochem. Physiol., 33: 629-653.
- DAVIS, K.B., PARKER, N.C.** and **SUTILE, M.A.** (1982). Plasma corticosteroids and chloride streaped bass exposed to tricaine methanesulphonate, quinaldine, etomidate and salt. Prog. Fish. Cult., 44(4): 502-507.
- ESCOUBET, P.** (1982). Utilisation et efficacité du métomidate comme anesthésiant sur dix espèces de poissons méditerranéens. Sci. Vét. Med. Comp. 84(6): 357-362.
- GUERIN-ANCEY, O.** (1976). Etude expérimentale de l'excrétion azotée du bar (*Dicentrarchus labrax*) en cours de croissance IV. Effets de la manipulation et du MS222 Sandoz sur l'excrétion d'ammoniac et d'urée. Aquaculture., 9: 367-372.
- HADJ KACEM/ KHALFALLAH, N., ALDRIN, J.F.** et **ROMESTAND, B.** (1986). Influence immédiate du brossage des bacs sur certains paramètres sanguins du loup d'élevage, *Dicentrarchus labrax* L: Effet de stress. Aquaculture, 59: 53-59.
- HOUSTON, A.H., MADDEN, J.A., WARDS, R.J.** and **MILES, H.M.** (1971). Some physiological effects of handling and tricaine methanesulphonate anaesthetization upon brook trout *Salvelinus fontinalis*. J. Fish. Res. Bd Can., 28: 625-633.

- HOUSTON, A.H., MADDEN, J.A., WARDS, R.J. and MILES, H.M.** (1971b). Variations in blood and tissue chemistry of brook trout *Salvelinus fontinalis* subsequent to handling, anesthesia and surgery. J. Fish. Res. Bd Can., 28: 635-642.
- MALMSTROM, T., SALTE, R., MAGNUS, H. and LINSETH, A.** (1993). A practical evaluation of metomidate and MS-222 as anaesthetics for atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). Aquaculture, 113: 331-338.
- MAZEAUD, F.** (1965). Action de la noradrénaline sur la glycémie de la carpe. C.r. Séanc. Soc. Biol., 159: 2159-2161.
- MAZEAUD, M.** (1971). Recherches sur la biosynthèse, la sécrétion et le catabolisme de l'adrénaline et la noradrénaline chez quelques espèces de cyclostomes et de poissons. Ph. D. Thesis, ès-Sciences, Université de Paris, 130 pp.
- MC FARLAND, W.N.** (1959). A study of the effects of anesthetics on the behavior and physiology of fishes. Pub. Inst. Marine. Sci., 6: 23-25.
- MC LEAY, D.J. and GORDON, M.R.** (1977). Leucocrit: A simple hematological technique for measuring acute stress in salmonid fish, including stress-full concentrations of pulp mill effluent. J. Fish. Res. Bd Can., 34: 2164-2175.
- MESSAGER, J.L. et ALDRIN, J.F.** (1980). L'exploration sanguine in ichtyopathologie. Considérations pratiques. Ichthyophysiologica Acta., 4: 84-107.
- OIKARI, A., and SOIVIO, A.** (1975). Influence of sampling methods and anesthetization on various haematological parameters of several teleosts. Aquaculture., 6: 171-180.
- RANDALL, D.I., SMITH, L.S. and BRETT, V.R.** (1965). Dorsal aortic blood pressures recorded from the rainbow trout *Salmo gairdnerii*. Can. J. Zool., 43: 863-872.
- SANO, T.** (1960). Haematological studies of the culture fishes in Japan 4: Method for repeated drawing of blood from cuvieran duct. Journal of the Tokyo University of Fisheries., 46(1): 89-90.
- SEIVERD, C.E.** (1964). Haematology for medical technologists. Lea et Febiger. Philadelphia: 1-334.

**SMIT, G.L., HATTINGH, J. and BURGER, A.P.** (1979). Haematological assessment of the effects of anesthetic MS222 in natural and neutralized form in three freshwater fish species: intraspecies difference. *J. Fish Biol.*, 15: 645-653.

**SOIVIO, A., NYHOLM, K. and HUHTI, M.** (1977). Effects of anesthesia with MS222, neutralised MS222 and benzocaine on the blood constituents of rainbow trout, *Salmo gairdnerii*. *J. Fish Biol.*, 10: 91-101.

**THOMAS, P. and ROBERTSON, L.** (1991). Plasma cortisol and glucose stress responses of red drum (*Sciaenops ocellatus*) to handling and shallow water stressors and anesthesia with MS222, quinaldine, sulfate and metomidate. *Aquaculture*, 96: 69-86.

**WEDEMEYER, G.** (1970). The role of stress in the disease resistance of fishes. In "A symposium on diseases of fishes and shell-fishes". *Amer. Fish. Soc. Spec. Publ.*, 5: 30-35.