



**42<sup>ème</sup> Journée de la Recherche Équine**  
**Jeudi 17 mars 2016**

## **Evaluation de la douleur et du stress par l'étude du rythme cardiaque et respiratoire, de l'expression faciale et du cortisol salivaire lors de ponctions folliculaires transvaginales échoguidées chez la jument**

F. Reigner<sup>1</sup>, R. Diego<sup>2</sup>, C. Douet<sup>2</sup>, P. Barriere<sup>1</sup>, T. Blard<sup>1</sup>, J. Cognié<sup>2</sup>, S. Deleuze<sup>3</sup>, G. Goudet<sup>2</sup>

<sup>1</sup> UEPAO INRA 37380 Nouzilly, France

<sup>2</sup> UMR PRC INRA 37380 Nouzilly, France

<sup>3</sup> Université de Liège 4000 Liège, Belgique

### **Résumé**

La ponction folliculaire transvaginale sous échographie permet la collecte d'ovocytes, de fluide et de cellules à des fins de diagnostic, de recherche, et de commerce. Notre objectif était de déterminer l'influence des ponctions sur la douleur, le stress et le bien-être des juments en évaluant le rythme cardiaque et respiratoire, l'expression faciale et le cortisol salivaire avant, pendant et après l'intervention. Après l'injection de sédatif nous avons observé un relâchement significatif au niveau de la position des oreilles, de la fermeture des paupières et de la contraction des muscles de la face. Ces observations permettent de penser que le traitement sédatif est adapté. Nous n'avons pas observé de modification significative de la concentration salivaire de cortisol au cours de la ponction. Par contre, le rythme cardiaque augmentait significativement lors de l'introduction de l'aiguille dans l'ovaire et il était significativement plus élevé à ce moment pour les animaux ponctionnés par rapport aux animaux contrôles. Cette étape pourrait donc être une étape sensible et une attention particulière doit être apportée au protocole d'analgésie pour assurer le bien-être des animaux.

**Mots clés : ponction folliculaire, sédation, analgésie, douleur, bien-être**

### **Summary**

Transvaginal ultrasound-guided follicular punctures allow the collection of oocytes, fluid and follicular cells for diagnosis, research and commercial applications. Our objective was to determine the influence of follicular punctures on pain, stress and well-being in the mare, by evaluating heart rate, respiratory rhythm, facial expression changes and salivary cortisol before, during and after puncture. After sedative injection, we observed a significant relaxation according to ear position, eyelid closure and contraction of facial muscles. These observations make us think that sedation is correct. We didn't observe any significant modification of salivary cortisol concentration during puncture. On the other hand, heart rate increased significantly when the needle was introduced in the ovary and was significantly higher at that time for the punctured mares compared to control mares. This step could be a sensitive one and particular attention should be brought to analgesia in order to maintain well-being of the mares.

**Key-words: follicular puncture, sedation, analgesia, pain, well-being**



## Introduction

La ponction folliculaire transvaginale sous échographie a été développée dans l'espèce équine au début des années 90 (Brück *et al.* 1992, Duchamp *et al.* 1995). Elle permet la collecte d'ovocytes, de fluide et de cellules folliculaires à des fins de diagnostic, de recherche, et pour des applications commerciales (collecte d'ovocytes pour la production d'embryons notamment). Il est donc important de déterminer l'influence des ponctions folliculaires transvaginales sur la douleur, le stress et le bien-être des juments.

Le stress induit une réponse rapide caractérisée par une augmentation du rythme cardiaque et respiratoire, et une réponse à plus long terme caractérisée par une augmentation des taux de cortisol plasmatique et salivaire (Schmidt *et al.* 2010). L'analyse du cortisol dans la salive est une technique non-invasive qui évite le stress induit par des prélèvements sanguins répétés. Par ailleurs, l'expression faciale est un outil utilisé pour mesurer la douleur chez l'homme, la souris et le rat, et une échelle d'évaluation de la douleur par l'expression faciale a été développée dans l'espèce équine (Dalla Costa *et al.* 2014).

Notre objectif était de déterminer l'influence des ponctions folliculaires transvaginales sur la douleur, le stress et le bien-être des juments en évaluant le rythme cardiaque et respiratoire, l'expression faciale et le cortisol salivaire avant, pendant et après l'intervention.

### 1 Matériel et méthodes

Des ponnettes de type Welsh de l'Unité Expérimentale de Physiologie Animale de l'Orfrasière à l'INRA de Nouzilly ont été utilisées. Elles étaient habituées au personnel, aux locaux et au matériel.

Dans le lot 'Ponction', les ponctions folliculaires ont été réalisées sur 11 ponnettes. Elles étaient placées dans une barre de contention et recevaient une médication classiquement utilisée pour les ponctions folliculaires (sédation, analgésie et antispasmodique) : Medesedan, 0,25ml/animal, Dolorex, 0,6ml/animal, Estocelan, 15ml/animal. La sonde d'échographie était placée dans le vagin et l'aiguille de ponction était introduite dans le follicule à ponctionner à travers la paroi du vagin puis de l'ovaire. L'ovaire était maintenu par voie transrectale. Après aspiration du fluide folliculaire et rinçages du follicule l'aiguille était retirée. Tous les follicules de plus de 10mm étaient ponctionnés sur les deux ovaires, puis la sonde était retirée. Une médication antibiotique préventive était administrée : Depocilline, 20ml/animal.

Dans le lot Contrôle, 10 ponnettes recevaient la même médication et les mêmes interventions à l'exception de l'introduction de la sonde d'échographie et de l'aiguille de ponction.

Pour les deux lots, le rythme cardiaque et respiratoire, la position des oreilles, la fermeture des paupières et les contractions des muscles de la face étaient évalués par un vétérinaire. Ces observations ainsi que des prélèvements de salive étaient réalisés au cours de la préparation de l'animal et de la ponction (ou après un temps d'attente équivalent pour le lot contrôle) et 8 jours après la ponction à la même heure. La concentration du cortisol salivaire était mesurée extemporanément avec le kit Cortisol Luminescence Immunoassay. Le tableau 1 présente les différents stades auxquels ont eu lieu les prélèvements et les observations.

**Tableau 1** : Stades de prélèvements et observations  
*Table 1: Time of the sampling and observations*

abréviations	Lot Ponction	Lot Contrôle
entrée	Avant l'entrée en salle de ponction	Avant l'entrée en salle de ponction
injection	Après l'injection de Medesedan	Après l'injection de Medesedan
sonde	Après l'introduction de la sonde dans le vagin	
aiguille 1/ 10min	Après l'introduction de l'aiguille dans le 1er ovaire	10 min après l'injection de Medesedan
aiguille 2	Après l'introduction de l'aiguille dans le 2ème ovaire	
fin / 20min	A la fin de la ponction, après l'injection d'antibiotique	20 min après l'injection de Medesedan
8 jours après	8 jours après la ponction	8 jours après la ponction

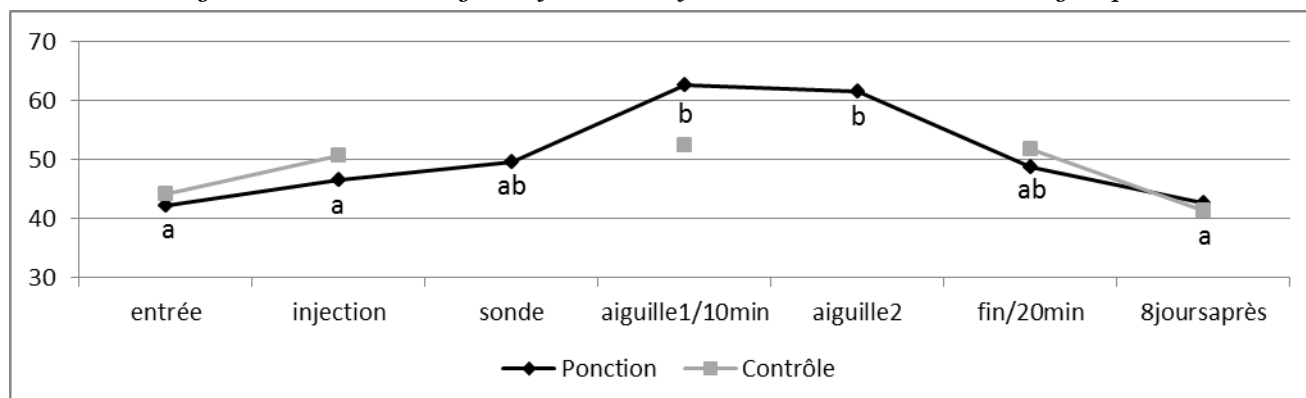
La comparaison des résultats entre stades a été réalisée par un test non paramétrique (méthode des permutations) et la comparaison entre lots a été réalisée par un test de Mann Whitney.

## 2 Résultats

### 2.1 Rythme respiratoire et cardiaque

Nous n'avons pas observé de modification significative du rythme respiratoire au cours du temps dans le lot Ponction et dans le lot Contrôle. Par contre, le rythme cardiaque augmente significativement lors de l'introduction de l'aiguille dans l'ovaire dans le lot Ponction, puis redescend ensuite (Figure I). Lors de l'introduction de l'aiguille dans l'ovaire, le rythme cardiaque est significativement plus élevé dans le lot Ponction que dans le lot Contrôle.

**Figure I** : rythme cardiaque moyen des ponnettes des lots Ponction et Contrôle  
**Figure I**: mean heart rhythm of the mares from the Puncture and Control group



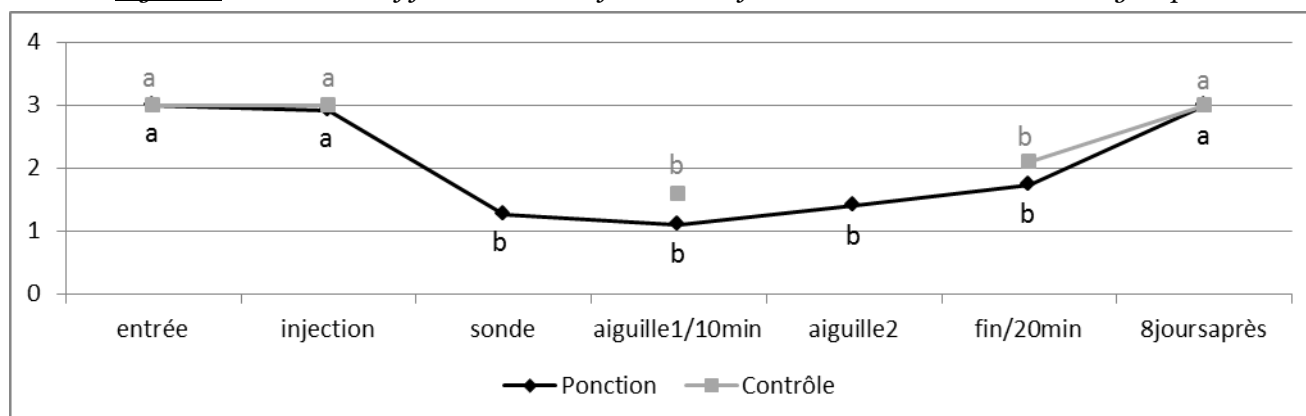
a, b : les lettres différentes indiquent une différence significative entre les stades pour le lot Ponction ( $p < 0,05$ ), aucune différence significative entre les stades n'a été observée pour le lot Contrôle. a, b : different letters indicate significant differences between steps in the Puncture group ( $p < 0.05$ ), no significant difference was observed in the Control group.

L'introduction de l'aiguille dans l'ovaire pourrait donc être une étape sensible dans la réalisation des ponctions et une attention particulière doit être apportée au protocole d'analgésie pour assurer le bien-être des animaux.

### 2.2 position des oreilles, fermeture des paupières et contractions des muscles de la face

Après la première injection de sédatif nous avons observé une modification significative de la position des oreilles (dirigées vers l'avant avant l'injection, vers l'arrière après l'injection), de la fermeture des paupières (ouvertes avant l'injection, mi-closes après l'injection) et de la contraction des muscles de la face (contractés avant l'injection, détendus après l'injection, Figure II) dans le lot Ponction et dans le lot Contrôle. Ces observations permettent de penser que le traitement sédatif a un effet relaxant. Nous n'avons pas observé de différence significative pour un stade donné entre les animaux des lots Ponction et Contrôle.

**Figure II** : contraction des muscles de la face des ponnettes des lots Ponction et Contrôle  
**Figure II**: contraction of facial muscles of the mares from the Puncture and Control group



a, b : les lettres différentes indiquent une différence significative entre les stades pour le lot Ponction ou pour le lot Contrôle ( $p < 0,05$ ). a, b : different letters indicate significant differences between steps in the Puncture or the Control group ( $p < 0.05$ ).  
 1 = détendus/relaxed, 2 = intermédiaire/middle, 3 = contractés/contracted.



### 2.3 Concentrations salivaires de cortisol

Nous n'avons pas observé de modification significative de la concentration salivaire de cortisol au cours du temps dans le lot Ponction et le lot Contrôle.

### 3 Conclusions

En conclusion, lors de ponctions folliculaires transvaginales sous échographie, et en particulier lors d'une utilisation commerciale de cette technique, les protocoles de sédation et d'analgésie doivent être adaptés pour assurer le bien-être des animaux. Pour éviter les effets secondaires d'une dose élevée de Medesedan, un ciblage analgésique de l'ovaire par une anesthésie locorégionale (épidurale) peut être envisagé afin de privilégier une analgésie multimodale. La mesure du rythme cardiaque et l'observation de l'expression faciale sont des critères simples et fiables pour évaluer l'efficacité de ces protocoles.

### Remerciements

Nous remercions le personnel de l'UEPAO pour l'entretien du troupeau expérimental équin et l'aide lors des expérimentations.

### Références

- Bruck, I., Raun, K., Synnestvedt, B., and Greve, T., 1992. Follicle aspiration in the mare using a transvaginal ultrasound-guided technique. *Equine Veterinary Journal* 24(1), 58-9.
- Dalla Costa, E., Minero, M., Lebelt, D., Stucke, D., Canali, E., and Leach, M.C., 2014. Development of the Horse Grimace Scale (HGS) as a pain assessment tool in horses undergoing routine castration. *PLoS One* 9(3), e92281.
- Duchamp, G., Bézard, J., and Palmer, E., 1995. Oocyte yield and the consequences of puncture of all follicles larger than 8 millimeters in mares. *Biology of Reproduction Monograph Series* 1, 233-41.
- Schmidt, A., Hodl, S., Mostl, E., Aurich, J., Muller, J., and Aurich, C., 2010b. Cortisol release, heart rate, and heart rate variability in transport-naive horses during repeated road transport. *Domestic Animal Endocrinology* 39(3), 205-13.