

# TECHNIQUE D'ANESTHESIE ET D'OPERATION POUR L'ABLATION DES GANGLIONS NERVEUX CHEZ LES GASTEROPODES OPISTHOBANCHES

Par N. VICENTE

Afin de mener à bien l'étude des phénomènes neurosécrétoires chez plusieurs Gastéropodes Opisthobranches (VICENTE 1962), j'ai été amené à effectuer des expériences d'ablations des différents ganglions du système nerveux de ces animaux (*Aplysia rosea* RATHKE, *Haminaea navicula* DA COSTA).

Une étude analogue est poursuivie par LEVER et ses collaborateurs chez *Limnaea stagnalis* et autres *Pulmonés*. Pour anesthésier ces animaux, LEVER les place dans une solution de *Nembutal* à 0,08 ‰ durant 20 à 30 minutes. Ce séjour est suivi d'un traitement d'une durée de 10 minutes dans une solution à 0,3 ‰ de M.S 222 + solution à 0,08 ‰ de *Nembutal*. Ce double traitement ayant pour but d'obtenir les animaux en extension et en parfait état de relâchement. En effet, le *Nembutal* seul n'a pas une action suffisante pour anesthésier d'une façon complète ces animaux qui souvent se rétractent pendant l'opération. Le M.S 222 qui est l'acide éthyloxy métaaminobenzofique sous forme méthansulfonate permet de les obtenir dans un état de relâchement idéal pour l'opération. LEVER effectue cette anesthésie à 21-25° C.

Avant LEVER, VAN DER SCHALIE (1957) fut le premier à utiliser le *Nembutal* pour anesthésier les Mollusques en extension. Il travaillait sur des spécimens du genre *Pomatiopsis*. Les animaux sont plongés dans 80 ml d'eau auxquels il ajoute 1 à 3 ml d'une solution sodique de *Nembutal* vétérinaire (60 mg par ml). Cette addition est répétée à intervalles d'une heure ou deux. Après 12 à 24 heures, les animaux ainsi traités sont en parfaite extension et peuvent être opérés sans subir aucune contraction.

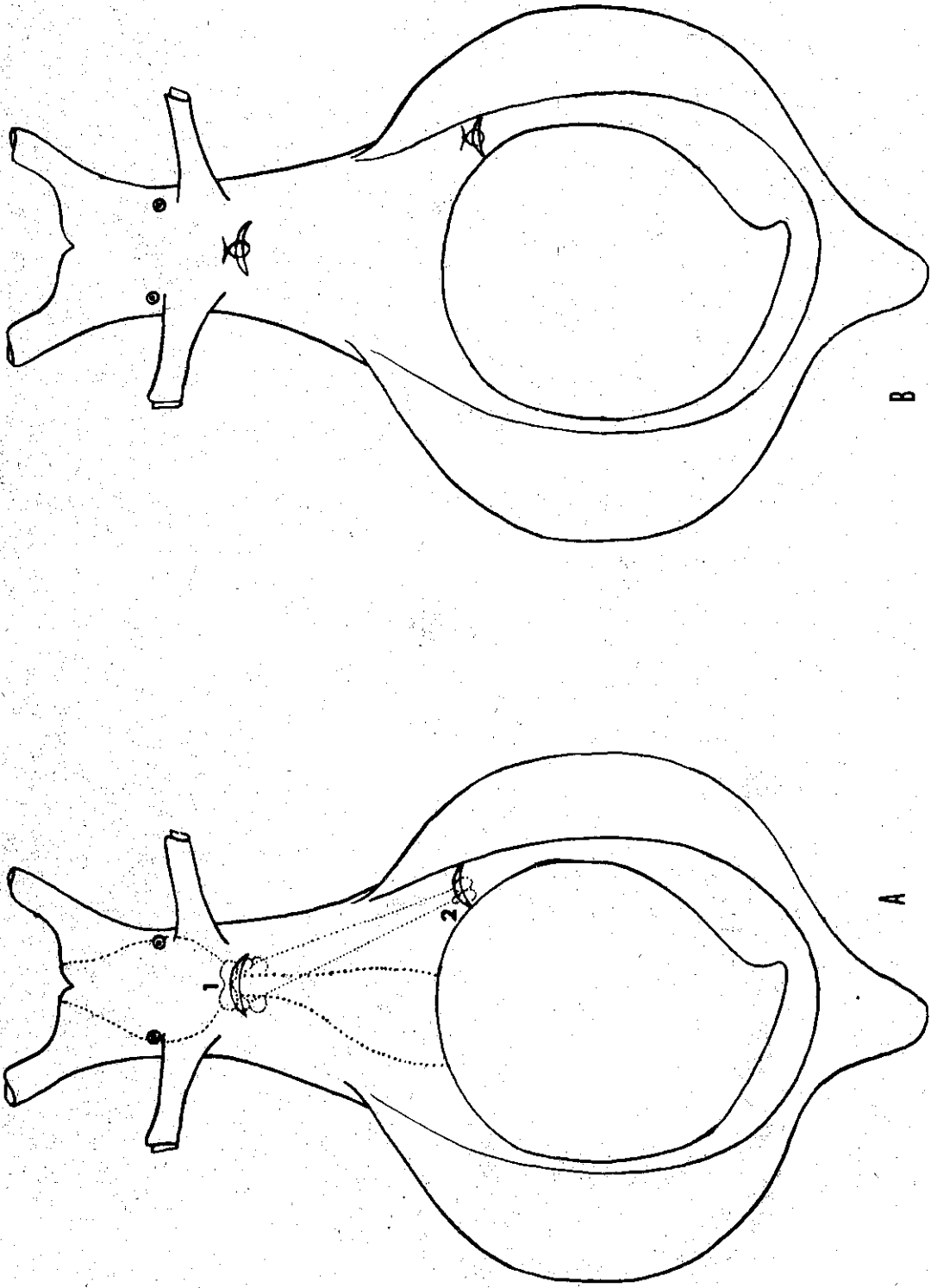
En 1958, Mc GRAW, travaillant sur *Limnaea palustris* ou *L. gyrina*, combine le *Nembutal* et le Menthol. Il place les animaux dans 150 ml d'eau, auxquels il ajoute 1 ml de la solution vétérinaire de *Nembutal*. Les animaux demeurent dans cette solution pendant 1h 1/4 - 1h 1/2. Ensuite, il ajoute des cristaux de Menthol réduits en poudre et les animaux sont réfrigérés (4° C) pendant 16-18 heures. Après ce long séjour, ils sont en extension et parfait état de relâchement.

VAN EEDEN (1958) chez *Physa* et *Bulinus*, utilise un mélange de Menthol et de chloral hydrate, et obtient une anesthésie complète au bout de 15 à 30 heures.

Toutes ces techniques ont l'inconvénient d'être d'une trop longue durée, ce qui représente un handicap lorsque l'on doit opérer en série. Celle de LEVER qui ne dure que 30 à 40 minutes, s'avèrait pour moi la plus intéressante, mais pouvait-elle s'appliquer aux Mollusques marins ?

Les techniques courantes d'anesthésie des animaux marins par le chlorure de Magnésium en solution isotonique ou par le Menthol, ne me donnant pas de résultats satisfaisants, j'ai essayé la méthode au *Nembutal* en préparant des solutions différentes avec de l'eau de mer.

J'utilise le *Nembutal* sous forme de capsules à 100 mg que je dissous dans l'eau de mer. J'ai tout d'abord essayé une dose assez forte, c'est à dire une solution à 3 mg de *Nembutal* par ml. Au bout de 7 à 10 minutes l'animal est en extension parfaite. Placé ensuite dans l'eau courante il



A - Position du système nerveux (en pointillé) et des incisions.

- 1 - collier nerveux périoesophagien
- 2 - ganglions viscéraux.

B - Ligatures.

revient péniblement à lui au bout de quelques heures. Il reprend alors une activité presque normale et recommence à se nourrir. Vingt quatre heures plus tard, les animaux ainsi traités sont toujours en vie, mais ont subi des perturbations morphologiques importantes :

- dépigmentation partielle des téguments.
- atrophie et rétraction des rhinophores et des tentacules labiaux.
- réduction des parapodies, la coquille devenant de ce fait très apparente.

Ils sont enflés en certains endroits, symptômes de l'animal sur le point de mourir. Deux jours après, les animaux meurent.

Avec une solution beaucoup plus faible, à 0,1 mg, l'animal n'est pas anesthésié au bout de 2 heures. Par contre avec une solution à 1 mg, on l'obtient en extension parfaite au bout de 20 à 30 minutes, en opérant à la température de 18° C. Replacé dans son milieu, il revient à lui environ une heure après sans subir aucune transformation morphologique.

La méthode est donc non seulement plus rapide mais aussi plus simple que celle de LEVER pour les Pulmonés d'eau douce, puisqu'elle peut se dispenser de l'addition de M.S 222.

La solution n'est vraiment active que 24 heures après sa préparation et peut être utilisée pour anesthésier plusieurs animaux.

**Opération :** Les animaux sont opérés directement dans la solution de Nembutal sous la loupe binoculaire. Ils sont fixés par les parapodies dans une petite cuvette à dissection constituée par une cuve à rainures utilisée pour les colorations histologiques et dans laquelle on a coulé de la paraffine sur une armature en laiton empêchant le décollement.

Ensuite, on pratique une petite incision transversale de 2 mm environ, en arrière des rhinophores (fig. A) et près de l'axe médian, lieu où se situe le collier nerveux périoesophagien. On saisit les téguments avec des pinces fines et l'on pratique l'incision transversale à l'aide de fins ciseaux vasculaires utilisés en physiologie.

On pratique une incision transversale de préférence à une incision longitudinale pour éviter que l'animal ne rejette son tube digestif.

On atteint le collier nerveux en perforant la membrane qui l'enveloppe, puis on le saisit à l'aide de fines pinces d'ophtalmologie crochues à leurs extrémités (pinces à iris) et l'on procède à l'ablation des différents ganglions à l'aide des ciseaux vasculaires.

Après l'opération, la blessure est refermée avec un point de fil de soie ou de nylon, très fin (fig. B), de couleurs différentes selon les groupes de ganglions prélevés. L'opération dure de 3 à 5 minutes.

Pour l'ablation chez *Aplysia rosea* des ganglions viscéraux situés au voisinage de la coquille et au niveau des organes reproducteurs, on pratique une incision identique tout près du bord antérieur de la coquille.

Les animaux traités sont ensuite placés dans des bacs à élevage en plexiglass, compartimentés et recevant un courant d'eau continu et bien réparti par plusieurs robinets d'eau de mer. De plus, le compartiment qui vient de recevoir l'animal fraîchement opéré est aéré pendant quelques heures. Au bout d'une heure environ l'animal opéré reprend une activité plus ou moins grande selon l'importance de l'ablation.

(Laboratoire de Biologie Animale  
S. P. C. N 1 et Station Marine d'Endoume).

## BIBLIOGRAPHIE

- LEVER J. and J. JOOSSE 1959 - Techniques of narcotization and operation for experiments with *Limnaea stagnalis* (*Gastropoda pulmonata*). *Proc. Kon. Ned. Akad. v. Wetensch. Amsterdam*, 62C, 2, 145-149.
- LEVER J. and HEKSTRA G.P. 1960 - Some effects of ganglion extirpation in *Limnaea stagnalis*. *Proc. Kon. Ned. Akad. v. Wetensch. Amsterdam*, 63C, 2, 271-282.
- MC GRAW B.M. 1958 - Relaxation of snails before fixation. *Nature*, 181, 575.
- VAN EEDEN J.A. 1958 - Two useful techniques in fresh water malacology. *Proc. Malacol. Soc. of London*, 33, 64-66.
- VAN DER SCHALIE H. 1957 - Nembutal as a relaxing agent for mollusks. *Amer. Midland Naturalist*, 50, 511-512.
- VICENTE N. 1962 - Particularités histologiques des cellules nerveuses et notamment des cellules neurosécrétrices chez *Haminaea navicula* (Da Costa) (*Mollusque Opisthobranche*) *Rec. Trav. St. Mar. End. Marseille. Bull.* 25 fasc. 39.