

Effet anesthésiant de l'huile essentielle de clou de girofle et du 2-Phenoxyethanol sur *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) (Piscès; Cichlidae)

[Anesthetic effect of clove essential oil and 2-Phenoxyethanol on *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) (Piscès; Cichlidae)]

Da Costa K.S.¹, J.E. Fagnidi², and Y.M. Dietoa³

¹Centre National de Recherche Agronomique (CNRA), Programme Pêche et Aquaculture Continentales (PAC), Laboratoire d'Ichtyologie et de Cryoconservation des Gènes de Poissons (LICGP), Côte d'Ivoire

²Institut National de Formation Professionnelle Agricole (INFP), Ecole Supérieure de Spécialisation en Pêche et Pisciculture Continentale (ESPPC), Côte d'Ivoire

³Université Nangui Abrogoua (UNA), Pôle Pêche et Aquaculture, Laboratoire d'Environnement et de Biologie Aquatique (LEBA), Côte d'Ivoire

Copyright © 2024 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: The anesthetic effect of clove essential oil and 2-Phenoxyethanol on tilapia *Oreochromis niloticus* is evaluated. For this study, 200 specimens measuring 103 to 169 mm SL and weighing 29 to 135 g were collected from ponds at the CNRA continental fishing and aquaculture research station in Bouaké and stored at 27°C in two thermostatically controlled tanks supplied by a closed water circuit. These specimens were fed with the ternary compound food 3A, at a rate of 110 g/d. After one week of acclimation, the fish were kept fasting for 30 h before the experiment. For the anesthesia tests, a device of three tanks was used per anesthetic, one for the control solution (Water + 90% Ethanol), one for the anesthesia and one for waking up the fish. The doses tested are 0.02, 0.04 and 0.06 ml/L of water for clove oil and 2.5, 5 and 10 ml/L of water for 2-Phenoxyethanol. Clove oil is previously dissolved in a solution of water and ethanol at a rate of 0.02 ml for 4 ml of ethanol/L of water. A control test without anesthetic was also carried out with the Water-Ethanol solution, in order to highlight the effect of Ethanol. The results obtained show that clove oil has a higher anesthetic power on *O. niloticus* compared to 2-Phenoxyethanol. The optimal effective dose is 0.04 ml/L of water compared to 0.5 ml/L of water for 2-Phenoxyethanol. The respective time of total loss of reflexes fluctuates between 31 s and 1 min 56 s for the first anesthetic, compared to 1 min 36 s to 4 min 08 s for the second at the minimum doses indicated. Ethanol has no anesthetic power on *O. niloticus*. The availability of clove oil on the local market in naturotherapist pharmacies and its affordable cost, i.e. 15,000 CFA francs for a 100 ml dose, make it a good candidate for the anesthesia of *O. niloticus* in aquaculture farms.

KEYWORDS: *Oreochromis niloticus*, Anesthetics, Clove essential oil, 2-Phenoxyethanol, aquaculture, Ivory Coast.

RESUME: L'effet anesthésiant de l'huile essentielle de clou de girofle et du 2-Phenoxyethanol sur le tilapia *Oreochromis niloticus* est évalué. Pour cette étude, 200 spécimens mesurant 103 à 169 mm LS et pesant 29 à 135 g ont été prélevés en étangs à la station de recherche en pêche et aquaculture continentales du CNRA à Bouaké et stockés à 27 °C dans deux bacs thermostatés alimentés par un circuit d'eau fermé. Ces spécimens ont été nourris avec l'aliment composé ternaire 3A, à raison de 110 g/j. Après une semaine d'acclimatation, les poissons ont été maintenus à jeun 30 h avant l'expérimentation. Pour les tests d'anesthésie, un dispositif de trois bacs a été utilisé par anesthésique, soit un pour la solution témoin (Eau + Ethanol à 90%), un pour l'anesthésie et un pour le réveil des poissons. Les doses testées sont de 0,02, 0,04 et 0,06 ml/L d'eau pour l'huile de clou de girofle et de 2,5, 5 et 10 ml/L d'eau pour le 2-Phenoxyethanol. L'huile de clou de girofle est préalablement dissoute

dans une solution d'eau et d'éthanol à raison de 0,02 ml pour 4 ml d'éthanol/L d'eau. Un test témoin sans anesthésique a été également réalisé avec la solution Eau-Ethanol, afin de ressortir l'effet de l'Ethanol. Les résultats obtenus montrent, que l'huile de clou de girofle a un pouvoir anesthésiant plus élevé sur *O. niloticus* comparativement au 2-Phenoxyethanol. La dose optimale efficace est de 0,04 ml/L d'eau contre 0,5 ml/L d'eau pour le 2-Phenoxyethanol. Le temps respectif de perte totale des réflexes des fluctue entre 31 s et 1 min 56 s pour le premier anesthésique, contre 1 min 36 s à 4 min 08 s pour le second aux doses minimales indiquées. L'Ethanol n'a pas de pouvoir anesthésiant sur *O. niloticus*. La disponibilité de l'huile de clou de girofle sur le marché local dans les officines de naturothérapeutes et son coût de revient accessible, soit 15 000 F CFA la dose de 100 ml, en font un bon candidat pour l'anesthésie de *O. niloticus* dans les élevages aquacoles.

MOTS-CLEFS: *Oreochromis niloticus*, Anesthésiques, Huile essentielle de clou de girofle, 2-Phenoxyethanol, aquaculture, Côte d'Ivoire.

1 INTRODUCTION

La densité de population, la lumière, la vitesse du courant, les concentrations d'oxygène et de CO₂ dans l'eau, la qualité de la nourriture mise à disposition, la manipulation des animaux et l'expérience des employés dans les fermes piscicoles, la santé, le transport, l'hygiène et les méthodes d'abattage constituent autant de paramètres biotiques et abiotiques qui exercent une influence sur le bien être des poissons [1] ([2], [3]). Aussi, de forts taux de mortalité sont-ils observés chez ces organismes aquatiques, lorsque les conditions de manutention sont inadéquates. Ainsi, le bien-être des poissons constitue un enjeu pour les exploitations piscicoles. D'où l'utilisation d'anesthésiques, dans la plupart des cas, pour immobiliser les poissons en période de manutention [4], [5], notamment, lors du marquage des poissons ou pour une sédation à long terme des spécimens faisant l'objet d'opérations chirurgicales. [6] indiquent, par ailleurs, que des doses mortelles d'anesthésiques peuvent être utilisées dans certains cas pour euthanasier l'animal.

Dans la pratique, plusieurs produits sont utilisés pour assurer le bien-être des animaux dont les poissons. De par leur nature, on distingue les anesthésiques chimiques et les anesthésiques non chimiques. Sont classés dans la première catégorie, la Tricaïne méthane sulfonate (MS-222), la benzocaïne, la lidocaïne connue sous le nom de MC3Xylocaïne, le métomidate, le propoxate, le chlorhydrate de kétamine, le sulfate de quinaldine connu sous l'appellation commerciale MC11Quinate, le propanidide, le 2-Phenoxyethanol connu sous les noms de phényle cellosolve, le phénoxéthol, l'éther monophénylique de l'éthylène glycol, l'éther phénylique du bêta hydroxyéthyle, le chlorobutanol, le chlorobutanol connu sous les noms de Chloretone, MC15Coliquifilm, Methaforme ou Sedaforme et l'huile de clou de girofle [4]. Dans ce groupe, on dénombre également le méthylpentynol, l'halothane [2-bromo-2-chloro-1,1,1-trifluoroéthane], l'uréthane connu sous les noms d'uréthane ou d'éthyle uréthane, le chlorobutanol et l'hydrate de chloral qui sont, par ailleurs, des anesthésiques chimiques non recommandés pour les poissons. Cela, à cause de leur toxicité à différentes périodes de vie [7], [8], [9], [4]. L'anesthésie non chimique concerne l'électroanesthésie qui est utilisée pour la capture des juvéniles et l'immobilisation des adultes de poissons, l'hypothermie par abaissement de la température ambiante des poissons à l'aide de glace ou d'eau froide, et l'anesthésie au dioxyde de carbone (CO₂) qui est un gaz inflammable qui a une solubilité de 1,7 L/L d'eau [4].

Malgré cette panoplie d'anesthésiques, on note leur faible utilisation dans les exploitations aquacoles en Côte d'Ivoire pour la manipulation des poissons, du fait de leur faible accessibilité, puisque importés. Il en résulte, que l'identification au niveau local d'un anesthésique chimique de substitution peu onéreux, non toxique pour les poissons et pour la santé humaine constitue un enjeu. Dans ce contexte, l'huile de clou de girofle disponible localement à un coût accessible, entre 13000 et 15000 F CFA par flacon de 15 ml et dont des cas d'utilisation pour l'anesthésie des poissons, notamment les Salmonidae [10], [11], [12], [13], [14], [15], [16], [17], [18] est signalé, semble un bon candidat. Toutefois, aucune référence bibliographique n'a été enregistrée sur les effets de cet anesthésique sur la principale espèce d'élevage en Côte d'Ivoire et en Afrique subsaharienne, le tilapia *Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1759. Aussi, s'agit-il dans le cadre de cette étude, d'évaluer son pouvoir anesthésiant sur ce poisson et de comparer ces effets à ceux du 2-Phenoxyethanol, anesthésique utilisé par la recherche piscicole nationale et importé à coûts plus onéreux.

2 MATERIELS ET METHODES

2.1 SITE D'ÉTUDE

Cette étude comparative des effets anesthésiants de l'huile essentielle de clou de girofle et du 2-Phénoxyéthanol été réalisée à la Station de Recherche en Pêche et Aquaculture Continentales du Centre National de Recherche Agronomique (CNRA). Cette unité de recherche anciennement appelée station piscicole de Kongodekro ou station piscicole de l'IDESSA est localisée à Bouaké, en région Centre de la Côte d'Ivoire.

2.2 POISSONS

Le poids des spécimens de *O. niloticus* utilisés pour les différents tests ont varié, respectivement, entre 29 et 135 g. La longueur totale (LT) et la longueur standard (LS) ont varié, respectivement, entre 99 et 208 mm et entre 103 et 165 mm (tableau 1).

Tableau 1. Caractéristiques morphométriques des spécimens de *Oreochromis niloticus* utilisés pour les tests réalisés

Expérimentations	N° test	Nombre Poissons Testés (Utés)	P (g)		LT (mm)		LS (mm)	
			Min	Max	Min	Max	Min	Max
I	1	10	51	135	155	208	118	167
	2	10	44	110	154	197	120	154
	3	10	53	107	154	196	120	161
II	1	12	43	135	99	199	111	164
	2	10	29	129	125	201	103	165
	3	10	59	134	148	202	117	169

I: Expérimentation avec l'huile essentielle de clou de girofle; II: Expérimentation avec le 2-Phénoxyéthanol

2.3 CARACTÉRISTIQUES DES ANESTHÉSISQUES ÉTUDIÉS

Pour ce qui concerne les caractéristiques des anesthésiques étudiés, l'huile de clou de girofle, d'utilisation récente comme anesthésique pour les poissons, est un liquide jaune pâle extrait des feuilles, des bourgeons et de la tige du girofler (*Eugenia* sp.). L'huile de clou de girofle (Numéro CAS: 8000-34-8) appelée encore huile de girofle contient 80% d'eugénol [10] et est non toxique.

Concernant le 2-phénoxyéthanol (2-PE) [1-hydroxy-2-phénoxyéthane], c'est un liquide huileux, aromatique et incolore, qui a un goût de brûlé. Cet anesthésique connu sous les noms de phényl cellosolve, phénoxéthol, éther monophénylique de l'éthylène glycol, et éther phénylique du bêta hydroxyéthyl a une solubilité dans l'eau de de 27 g/L à 20 °C [20]. Cette substance est souvent utilisée comme anesthésique topique [20]. Le 2-phénoxyéthanol est une toxine faible, qui peut causer une certaine irritation au niveau de la peau. D'où le besoin d'éviter tout contact avec les yeux [21]. Cette toxine pourrait aussi causer des dommages hépatiques et rénaux chez l'homme [22].

2.4 PROTOCOLE

Pour ce qui relève du dispositif expérimental, trois bacs transparents aux parois lisses sans danger d'abrasion pour les poissons ont servi, respectivement, pour la solution témoin (Eau + Ethanol à 90%), de la solution d'anesthésique et pour l'eau de réveil des poissons. La température, l'oxygène et le pH de l'eau ont été mesurés à l'aide d'un oxythermomètre muni d'une sonde additionnelle pour le dosage de l'ion hydrogène. Par ailleurs, trois chronomètres ont servi, respectivement, pour la mesure du temps dans les solutions témoin, d'anesthésie ou de réveil des poissons expérimentaux. Ceux-ci ont été pesés à l'aide d'une balance électronique de portée 600 g et de précision 0,6 g. Leurs caractéristiques morphométriques ont été mesurées à l'aide d'un ichtyomètre pour les grands spécimens et d'un pied à coulisse pour les individus de petite taille. En outre, trois seaux de 10 l chacun ont servi pour le dosage des volumes d'eau à utiliser dans les bacs expérimentaux. Par ailleurs, une seringue de 10 ml et 1 pipette graduée de 50 ml équipée d'une poire ont servi, respectivement, pour le prélèvement des doses d'huile essentielle de clou de girofle et du 2-Phénoxyéthanol. Des béchers de 50 ml ont été, ensuite, utilisés pour la préparation des solutions d'anesthésiques. Enfin, les résultats des expérimentations ont fait l'objet d'ordination en vue d'analyse.

Les poissons expérimentaux ont été nourris à raison de 110 g/j. L'alimentation des poissons a été interrompue 30 h avant anesthésie. Pour les tests d'anesthésie, des échantillons respectifs de 10 à 12 poissons ont été collectés en bacs circulaires et maintenus en stabulation dans une lessiveuse équipée d'un bulleur. Au niveau méthodologique, l'étude a consisté à tester, respectivement, l'effet anesthésiant de l'huile essentielle de Clou de girofle, du 2-Phenoxyethanol et de l'éthanol (Témoin) sur *O. niloticus*. Le mode opératoire de [23] consignant la procédure normalisée de fonctionnement PNF) pour l'anesthésie des poissons a été observé pour l'expérimentation.

EXPERIMENTATION 1: EVALUATION DE L'EFFET ANESTHESANT DE L'HUILE ESSENTIELLE DE CLOU DE GIROFLE

Trois doses d'huile essentielle de clou de girofle (Eugénol, Eugényle Acétate) ont été testées, soit 0.02 ml/L d'eau, 0.04 ml/L d'eau, 0.06 ml/L d'eau. Afin de faciliter la dilution de l'anesthésique dans l'eau, la dose indiquée a été préalablement diluée à raison de 4 ml d'éthanol pour 1 litre d'eau. Deux répliquats ont été réalisées par dose testée. Pour l'expérimentation, trois bacs transparents (Bac 1: Bac de stockage; Bac 2: Bac d'anesthésie et Bac 3: Bac de réveil) ont été utilisés. Ceux-ci sont disposés à distance raisonnable pour éviter toute contamination des eaux provenant de l'un ou l'autre des milieux expérimentaux. Ensuite, 10 L d'eau de source a été déversée, respectivement, dans chacun des bacs transparents.

Pour chaque dose testée, deux lots de 5 à 7 spécimens de *O. niloticus* (Lots 1 et 2) préalablement stocké dans le bac de stockage ont été utilisés, respectivement, pour le test 1 et son répliquat. Chaque poisson a été soumis individuellement au test d'anesthésie. Celui-ci est introduit dans le bac 2 contenant la solution d'huile essentielle de clou de girofle. Les temps mis pour atteindre les différents stades d'anesthésie allant de 1 à 6 sont mesurés.

A l'issue du test d'anesthésie et d'éveil, chaque spécimen de *O. niloticus* est à nouveau anesthésié dans une solution de 0,5 ml de 2-Phenoxyethanol par litre d'eau, puis disséqués en vue de l'évaluation du stade de maturité sexuelle. Toutes les données collectées sont consignées dans des fiches de terrain élaborées à cet effet et ordinées.

EXPERIMENTATION 2: EVALUATION DE L'EFFET ANESTHESANT DU 2-PHENOXYETHANOL SUR *O. NILOTICUS*

Trois doses 2-Phenoxyethanol, soit respectivement 2,5 ml/L d'eau, 5 ml/L d'eau et 10 ml/L d'eau. Celles-ci ont été testées conformément à la méthodologie adoptée pour l'expérimentation 1.

EXPERIMENTATION 3: EVALUATION DE L'EFFET ANESTHESANT DE L'ETHANOL SUR *O. NILOTICUS* (TEMOIN)

Cette expérimentation réalisée conformément méthodologie adoptée pour l'expérimentation 1, a servi de témoin. Cela, dans la mesure où le dilueur utilisé, respectivement, pour la dilution de l'huile essentielle de clou de girofle et du 2-Phenoxyethanol, est l'éthanol pour lequel, chaque dose d'anesthésique testée a été diluée dans une solution de 4 ml d'éthanol par litre d'eau. Pour le test Témoin, le bac d'anesthésie contenait uniquement une solution d'éthanol à raison de 4 ml /L d'eau. Au total, 10 L de solutions ont été préparées.

2.5 DOSES DES ANESTHESIQUES TESTES PAR UNITE DE POIDS

Les doses respectives d'huile essentielle de clou de girofle testées de 0,02, 0,04 et 0,06 ml/L d'eau ramenées à l'unité de poids vif de *O. niloticus* (29-135 g) utilisé pour les expérimentations sont, respectivement, de 0,007 - 0,0014, 0,0014 – 0,003 et 0,004 – 0,021 ml/g. Les valeurs correspondantes pour les doses testées de 2-Phenoxyethanol de 0,25, 0,50 et 1 ml/L d'eau sont de 0,02 – 0,09, 0,04 – 0,17 et 0,07 – 0,34 ml/g.

2.6 CRITÈRES D'ANESTHÉSIE ET DE RÉVEIL

Les stades de sédation ou d'anesthésie des poissons sont évalués selon l'échelle PNF-01-P [24] et [25] (tableau 2). Les temps mis pour l'atteinte des stades de sédation énumérés sont enregistrés. Une fois le stade 6 d'anesthésie atteint avec une perte totale de réactivité du poisson et des mouvements lents et irréguliers des opercules. Ensuite, le poisson anesthésié est transféré dans le milieu d'éveil. Puis, les temps mis pour atteindre les stades d'éveil suivants sont mesurés: début de mouvement actif des opercules, début de mouvement actif des pectorales, début de nage, début d'équilibre et début de nage active.

Les stades d'éveil du poisson sont décrits.

Tableau 2. Stades d'anesthésie suivant l'échelle PNF-01-P (Source: [24], [25])

Echelle	Stade	Description
1	Normal	Réagit aux stimuli, rythme operculaire et tonus musculaire normaux
2	Legers sedation	Légère perte de réactivité aux stimuli externe à l'exception d'une forte pression; réagit uniquement aux forts stimuli tactiles et vibratiles.
3	Forte sedation	Perte totale de réactivité aux stimuli externes à l'exception d'une forte pression; Légère diminution du taux operculaire; équilibre normal
4	Perte partielle d'équilibre	Perte partielle du tonus musculaire ; nage erratique; augmentation du taux operculaire; réagit uniquement aux forts stimuli tactiles et vibratiles;
5	Perte totale d'équilibre	Perte totale du tonus musculaire et de l'équilibre ; taux operculaire faible mais régulier; perte des réflexes spinaux
6	Perte des reflexes	Perte totale de réactivité; mouvements operculaires lents et irréguliers; rythme cardiaque très lent; pertes de tous les réflexes
7	Asphyxie (Medullary collapse)	Arrêt du mouvement operculaire; rapidement suivi d'un arrêt cardiaque (en général)

2.7 PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES DU MILIEU D'ANESTHESIE

Après l'alimentation en eau des bacs expérimentaux, on a procédé à la mesure de la teneur en oxygène, du pH et de la température. La température ambiante est également enregistrée à l'aide d'un thermomètre à mercure. Ces paramètres sont mesurés à nouveau après l'ajout dans le bac 2 de la solution d'anesthésique + Ethanol.

2.8 ANALYSE DES DONNÉES

Les valeurs moyennes, min, max et écart types des paramètres évalués dans l'étude ont été calculés. Des régressions linéaires simples ont été utilisées pour étudier la relation entre les concentrations des anesthésiques testés et les temps d'induction des stades de l'anesthésie. La méthodologie d'analyse des données appliquée par [23] a été utilisée. Une analyses de variance ANOVA à un facteur réalisée à l'aide du logiciel IBM SPSS Statistics 22.0 a permis de comparer les paramètres physico-chimiques dans les bacs expérimentaux, les temps d'induction de l'anesthésie par les deux produits testés, ainsi que les temps de recouvrement de la position d'équilibre après anesthésie. Ensuite, une comparaison des pentes des droites de régression des anesthésiques testés a été effectuée à l'aide du logiciel R, afin de mettre en évidence d'éventuelles différences concernant leurs effets en fonction de leurs concentrations.

3 RESULTATS

3.1 QUALITE PHYSICO-CHIMIQUE DE L'EAU DANS LES BACS EXPERIMENTAUX

Dans les bacs expérimentaux du dispositif mis en place pour le test 1 sur l'huile de clou de girofle, les caractéristiques physico-chimiques de l'eau et des solutions anesthésiantes (tableau 3) sont les suivantes: *Bac 1 de stockage* - entre $11,7 \pm 0,3$ et $20,5 \pm 1,5$ mg/l pour l'oxygène, entre $5,3 \pm 0,2$ et $4,6 \pm 0,9$ pour le pH et entre $26,2 \pm 0,8$ et $28,1 \pm 0,1$ °C; *Bac 2 d'anesthésie avec l'huile essentielle de clou de girofle* - entre $13,2 \pm 7,6$ et $18,4 \pm 5,6$ mg/l pour l'oxygène, entre $5,2 \pm 0,1$ et $5,4 \pm 0,2$ pour le pH et entre $27,4 \pm 0,4$ et $28,3 \pm 0,1$ °C; *Bac 3 d'éveil* - entre $11,7 \pm 0,0$ et $18,4 \pm 5,5$ mg/l pour l'oxygène, entre $5,6 \pm 0,0$ et $5,2 \pm 0,1$ pour le pH et entre $27,9 \pm 0,1$ et $29,3 \pm 0,1$ °C. Les paramètres physico-chimiques de l'eau dans les bacs expérimentaux utilisés pour le test 2 sur le 2-Phénoxyethanol ont varié en moyenne, respectivement, comme suit (tableau 3): *Bac 1 de stockage*: entre $5,2 \pm 0,8$ et $5,6 \pm 0,3$ mg/l pour l'oxygène, entre $5,4 \pm 0,0$ et $5,7 \pm 0,1$ pour le pH et entre $27,6 \pm 0,6$ et $29,1 \pm 0,1$ °C; *Bac 2 d'anesthésie avec le 2-Phénoxyethanol* - entre $5,3 \pm 0,0$ et $5,8 \pm 0,0$ mg/l pour l'oxygène, entre $5,3 \pm 0,2$ et $5,4 \pm 0,3$ pour le pH et entre $27,0 \pm 0,1$ et $29,3 \pm 0,3$ °C; *Bac 3 d'éveil* - entre $4,7 \pm 0,6$ et $5,7 \pm 0,7$ mg/l pour l'oxygène, entre $5,3 \pm 0,2$ et $5,6 \pm 0,0$ pour le pH et entre $27,9 \pm 0,1$ et $29,3 \pm 0,1$ °C. Dans les bacs témoins contenant la solution d'éthanol, la qualité de l'eau a varié comme suit: entre $11,7 \pm 0,0$ et $18,4 \pm 5,5$ mg/l pour l'oxygène, entre $5,6 \pm 0,0$ et $5,2 \pm 0,1$ pour le pH et entre $27,9 \pm 0,1$ et $29,3 \pm 0,1$ °C. Globalement, la température de l'eau, la teneur en oxygène dissous et le pH ne diffèrent pas significativement d'un bac expérimental à l'autre ($p > 0,05$).

Tableau 3. Paramètres physico-chimiques de l'eau dans les bacs expérimentaux

Expérimentation	Tests	Bacs expérimentaux	Oxygène (mg/L)		Température (°C)		pH	
			Moy.	Ecart type	Moy.	Ecart type	Moy.	Ecart type
I	1	Bac 1 : Eau de stockage	11.7	0.3	27.1	0.4	5.3	0.2
		Bac 2 : Eau + Ethanol (Témoin)	11.9	0.0	27.3	0.1	5.4	0.4
		Bac 3 : Eau + Ethanol + Huile de clou de girofle	13.2	7.6	27.4	0.4	5.4	0.2
		Bac 4 Eau d'éveil	11.7	0.0	27.0	0.5	5.6	0.0
	2	Bac 1 Eau de stockage	20.5	5.7	26.2	0.8	4.6	0.9
		Bac 2 : Eau + Ethanol (Témoin)	18.0	4.9	28.2	0.1	5.3	0.0
		Bac 3 : Eau + Ethanol + Huile de clou de girofle	17.0	2.1	28.3	0.1	5.3	0.0
		Bac 4 Eau d'éveil	16.5	5.7	28.2	0.1	5.4	0.1
	3	Bac 1 Eau de stockage	20.5	1.4	28.1	0.1	5.2	0.1
		Bac 2 : Eau + Ethanol (Témoin)	19.1	6.5	28.0	0.1	5.3	0.1
		Bac 3 : Eau + Ethanol + Huile de clou de girofle	18.4	5.6	28.1	0.1	5.2	0.1
		Bac 4 Eau d'éveil	18.4	5.5	28.0	0.1	5.2	0.1
II	1	Bac 1 : Eau de stockage	5.6	0.3	28.2	1.3	5.7	0.1
		Bac 2 : Eau + Ethanol (Témoin)	5.7	0.1	28.0	1.2	4.8	0.8
		Bac 3 : Eau + Ethanol + 2-Phenoxyethanol	5.8	0.0	27.0	0.0	5.4	0.3
		Bac 4 : Eau d'éveil	4.7	0.6	28.0	1.8	5.4	0.3
	2	Bac 1 : Eau de stockage	5.5	0.0	29.1	0.1	5.5	0.1
		Bac 2 : Eau + Ethanol (Témoin)	5.5	1.0	29.2	0.3	5.4	0.1
		Bac 3 : Eau + Ethanol + 2-Phenoxyethanol	5.7	0.7	29.3	0.3	5.4	0.2
		Bac 4 : Eau d'éveil	5.6	0.4	29.3	0.1	5.6	0.0
	3	Bac 1 : Eau de stockage	5.2	0.8	27.6	0.6	5.4	0.0
		Bac 2 : Eau + Ethanol (Témoin)	5.1	0.5	27.9	0.2	5.4	0.1
		Bac 3 : Eau + Ethanol + 2-Phenoxyethanol	5.3	0.0	27.7	0.1	5.3	0.2
		Bac 4 : Eau d'éveil	5.2	0.5	27.9	0.1	5.3	0.2

I: Expérimentation avec l'huile essentielle de clou de girofle; II: Expérimentation avec le 2-Phénoxyethanol

3.2 COMPARAISON DE L'EFFET ANESTHESANT DE L'HUILE DE CLOU DE GIROFLE ET DE LA 2-PHENOXYETHANOL SUR *O. NILOTICUS*

L'huile essentielle de Clou de girofle a un pouvoir anesthésiant supérieur à celui de la 2-Phénoxyéthanol. La figure 1 montre, que les doses requises pour l'anesthésie de *Oreochromis niloticus* sont inférieures avec le premier anesthésique testé. Que ce soit les données brutes ou la transformation logarithmique, les diagrammes de dispersion montrent, qu'il n'y a pas de relation linéaire entre le temps d'action (Y) et la dose (X) d'anesthésie pour chaque type d'anesthésie, tel qu'évalué par l'inspection visuelle du nuage de points. Il y a homogénéité des pentes de régression puisque le terme d'interaction n'est pas statistiquement significatif, $F(1,8) = 0,04$; $p = 0,85$. Le test de Levène n'est pas significatif ($p = 0,224 > 0,05$); ce qui suppose l'homogénéité des variances résiduelles pour les deux types d'anesthésie. Après ajustement pour tenir compte du temps d'action de l'anesthésie, il n'y a pas de différence statistiquement significative de dose entre les deux types d'anesthésie étudiés, $F(1,8) = 1,522$; $p = 0,252$. L'interaction Log Dose - Temps Anesthésie n'étant pas significative ($p = 0,846 > 0,05$), les pentes des droites de régression sont supposées parallèles, donc statistiquement identiques.

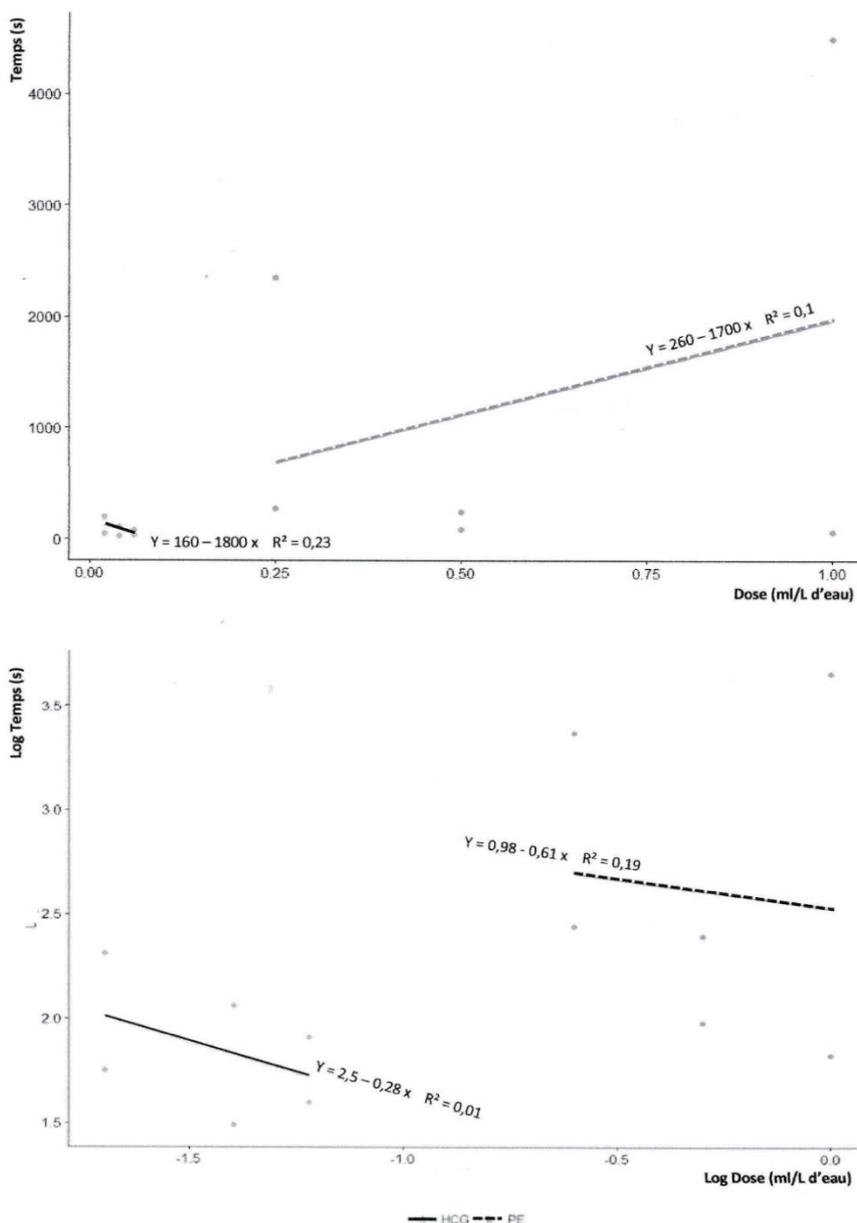


Fig. 1. Comparaison de l'effet anesthésiant de l'huile essentielle de clou de girofle et de la 2-Phenoxyéthanol sur *O. niloticus*

3.3 EFFET ANESTHESIAANT DE L'HUILE DE CLOU DE GIROFLE SUR *O. NILOTICUS*

L'huile de clou de girofle induit chez *Oreochromis niloticus* un temps d'anesthésie très rapide sans perte totale de l'influx nerveux. En effet, quelle que soit la dose administrée, le poisson anesthésié reste en équilibre sans se coucher sur le flanc. L'état normal des poissons est observé entre 7 s et 16 s à la dose 0,02 ml + 4 ml d'éthanol / L d'eau, contre 6 à 10 s à 0,04 ml + 4 ml d'éthanol / L d'eau, et contre 7 et 13 s à 0,06 ml + 4 ml d'éthanol / L d'eau (Figure 1). Les durées de temps observées pour le maintien des spécimens de *O. niloticus* dans un état normal ne diffèrent pas significativement ($p > 0,05$).

La perte totale de l'équilibre est observée entre 43 s et 2 min 20 s à la dose 0,02 ml + 4 ml d'éthanol/L d'eau, contre 29 s à 1 min 56 s à 0,04 ml + 4 ml d'éthanol/L d'eau, et contre 30 s et 1 min 13 s à 0,06 ml + 4 ml d'éthanol/L d'eau (Figure 2; tableau 4). Ainsi, le temps d'anesthésie décroît graduellement avec l'augmentation de la dose d'huile essentielle de clou de girofle. La perte des réflexes est observée, respectivement, entre 57 s et 3 min 25 s à 0,02 ml + 4 ml d'éthanol/L d'eau, contre 31 s à 1 min 56 s à 0,04 ml d'éthanol/L d'eau), et contre 40 s à 1 min 22 s à 0,06 ml + 4 ml d'éthanol/L d'eau). Les pertes d'équilibre et de réflexes sont pratiquement instantanées à la dose 0,04 ml + 4ml d'éthanol/L d'eau, contrairement aux deux autres doses testées. Au regard de l'état du poisson (état normal ou état de choc) pendant le processus d'anesthésie et le temps mis, la dose optimale pour l'endormissement des spécimens de *O. niloticus* est de 0,04 ml d'éthanol/L d'eau (Figure 2). Toutefois, les

temps mis pour l'atteinte de la perte de l'équilibre de l'espèce considérée avec l'huile essentielle de clou de girofle ne varient pas significativement d'une dose à l'autre ($p > 0,05$).

Pour ce qui concerne la récupération après anesthésie, les spécimens de *O. niloticus* anesthésié à l'huile essentielle de clou de girofle aux doses minimale de 0,02 ml/L d'eau et optimale de 0,04 ml/L d'eau débute, une fois plongés dans l'eau sans anesthésique, leur éveil à partir de 2 à 20 s. La nage complète est observée au bout de 15 s à 6 min 18 s (Figure 2; tableau 4). Aucune différence significative ($p > 0,05$) n'est observée pour ces temps d'éveil enregistrés.

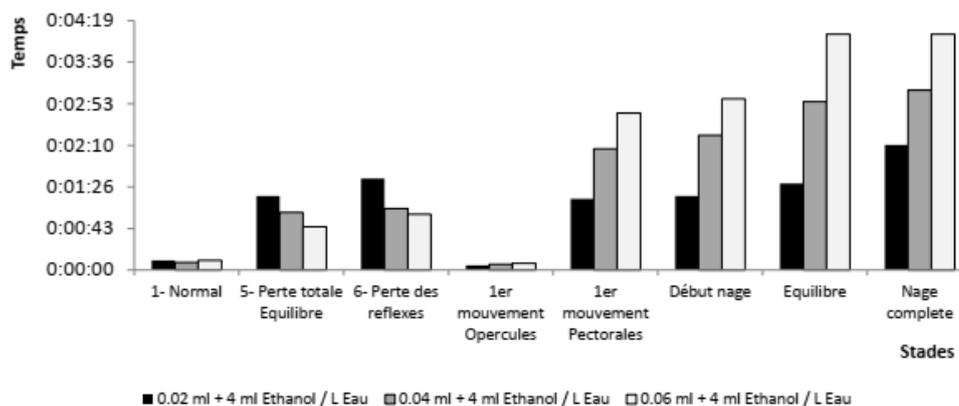


Fig. 2. Temps d'anesthésie et d'éveil des spécimens de *O. niloticus* à différentes doses d'huile essentielle de clou de girofle

3.4 EFFET ANESTHESANT DU 2-PHENOXYETHANOL SUR *O. NILOTICUS*

A la dose de 0,25 ml + 4 ml/L d'eau de 2-Phenoxyethanol, les poissons dans le bac d'anesthésie restent en état normal entre 8 s et 1 min 05 s, contre 6 min à 14 min pour la dose 0,5 ml et contre 2 s à 16 s pour la dose 1 ml + 4 ml/L d'eau (figure 3; tableau 5). La perte totale d'équilibre est observée entre 3 min 21 s et 28 min 03 s à 0,25 ml/L d'eau de 2-Phenoxyethanol, contre 1 min 16 s et 3 min 14 s à 0,5 ml/L d'eau de 2-Phenoxyethanol, et contre 58 s et 1 min 20 s. La perte totale de l'équilibre est observée entre 4 min 36 s et 1 h 39 min 11 s. En moyenne, la perte des réflexes chez les spécimens de *O. niloticus* est enregistré dans un délai plus long à 0.25 ml/L d'eau de 2-Phenoxyethanol, soit de 4 min 36 à 1 h 39 min 11 s contre 1 min 36 à 4 min 08 s à 0.5 ml/L d'eau de 2-Phenoxyethanol, et contre 1 min 07 s à 1 h 15 min à 1 ml/L d'eau de 2-Phenoxyethanol (figure 3). Les temps mis pour la perte totale d'équilibre de *O. niloticus* ne diffèrent pas significativement ($p > 0,05$).

Les spécimens de *O. niloticus* anesthésiés au 2-Phenoxyethanol à la dose optimale de 0,5 ml/L d'eau fluctue au commencement à s'éveiller entre 6 à 17 s avec les premiers mouvements de l'opercule branchiale. Les individus traités retrouvent la nage complète entre 1 min 18 s et 6 min 32 s (figure 3; tableau 5). Ce temps d'éveil observé à 0,5 ml/L d'eau ne diffère pas significativement ($p > 0,05$) de ceux observés à 0,25 ml/L d'eau (05 à 59 s) et à 1 ml/L d'eau (01: 07 s à 01: 15: 00 s).

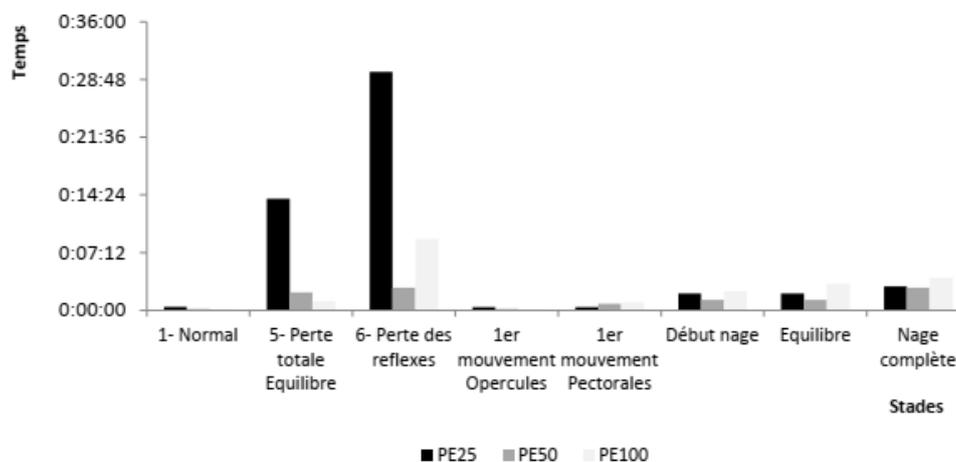


Fig. 3. Temps d'anesthésie et d'éveil des spécimens de *O. niloticus* à différentes doses de 2-Phenoxyethanol

Tableau 4. Temps moyens d'anesthésie et de réveil d'*O. niloticus* par stade à l'aide stade à l'aide de trois concentrations d'huile essentielle de Clou de girofle

Tests	Replicat	Anesthésique	Dose testée (ml + 4 ml Ethanol / L Eau)	Paramètres	1- Normal	5 -Perte totale Equilibre	6- Perte des reflexes	1er mouvement Opercules	1er mouvement Pectorales	Début nage	Equilibre	Nage complete
Témoin	1&2	Aucun	4 ml Ethanol / L Eau	Moy	0	0	0	0	0	0	0	0
				Ecart type	0	0	0	0	0	0	0	0
1	1&2	Huile de clou de girofle	0.02	Moy	0:00:10	0:01:17	0:01:35	0:00:05	0:01:14	0:01:17	0:01:30	0:02:10
				Ecart type	0:00:03	0:00:34	0:00:49	0:00:05	0:00:44	0:00:50	0:00:33	0:01:42
				Min	0:00:07	0:00:43	0:00:57	0:00:02	0:00:03	0:00:04	0:00:04	0:00:15
				Max	0:00:16	0:02:20	0:03:25	0:00:20	0:02:09	0:02:43	0:03:89	0:06:18
2	1&2	Huile de clou de girofle	0.04	Moy	0:00:08	0:01:00	0:01:04	0:00:06	0:02:06	0:02:20	0:02:55	0:03:07
				Ecart type	0:00:01	0:00:33	0:00:31	0:00:02	0:00:54	0:00:56	0:00:51	0:01:10
				Min	0:00:06	0:00:29	0:00:31	0:00:03	0:00:47	0:01:27	0:01:27	0:02:04
				Max	0:00:10	0:01:56	0:01:56	0:00:08	0:03:44	0:03:58	0:02:17	0:06:15
3	1&2	Huile de clou de girofle	0.06	Moy	0:00:10	0:00:45	0:00:58	0:00:07	0:02:43	0:02:58	0:04:05	0:04:05
				Ecart type	0:00:02	0:00:13	0:00:14	0:00:02	0:00:37	0:00:32	0:00:43	0:01:16
				Min	0:00:07	0:00:30	0:00:40	0:00:04	0:01:39	0:01:56	0:01:56	0:02:48
				Max	0:00:13	0:01:13	0:01:22	0:00:10	0:03:21	0:03:43	0:06:07	0:07:14

Tableau 5. Temps moyens d'anesthésie et de réveil d'*O. niloticus* par stade à l'aide de trois concentrations de 2-Phenoxyethanol

Test	Replicat	Anesthésique	Doses testées (ml + 4 ml Ethanol / L Eau)	Paramètres	1- Normal	5- Perte totale Equilibre	6- Perte des reflexes	1er mouvement Opercules	1er mouvement Pectorales	Début nage	Equilibre	Nage complète
Témoin	1&2	Aucun	4 ml Ethanol / L Eau	Moy	0	0	0	0	0	0	0	0
				Ecart Type	0	0	0	0	0	0	0	0
1	1&2	2-Phenoxyethanol	0.25	Moy	0:00:26	0:13:56	0:29:46	0:00:24	0:00:24	0:02:06	0:02:06	0:02:59
				Ecart type	0:00:21	0:08:20	0:28:30	0:00:21	0:00:21	0:02:04	0:00:00	0:02:19
				Min	0:00:08	0:03:21	0:04:36	0:00:05	0:00:05	0:00:41	0:00:41	0:01:04
				Max	0:01:05	0:28:03	0:39:11	0:00:59	0:00:59	0:08:16	0:08:16	0:09:10
2	1&2	2-Phenoxyethanol	0.5	Moy	0:00:09	0:02:13	0:02:50	0:00:10	0:00:48	0:01:19	0:01:19	0:02:49
				Ecart type	0:00:02	0:00:48	0:00:50	0:00:04	0:00:19	0:00:23	0:00:00	0:01:26
				Min	0:00:06	0:01:16	0:01:36	0:00:06	0:00:12	0:00:32	0:00:32	0:01:18
				Max	0:00:14	0:03:44	0:04:08	0:00:17	0:01:10	0:01:48	0:01:48	0:06:32
3	1&2	2-Phenoxyethanol	1	Moy	0:00:09	0:01:09	0:08:54	0:00:07	0:00:58	0:02:21	0:03:17	0:04:03
				Ecart type	0:00:04	0:00:16	0:23:14	0:00:01	0:00:31	0:00:56	0:00:44	0:03:42
				Min	0:00:02	0:00:58	0:01:07	0:00:05	0:00:16	0:01:02	0:02:04	0:02:04
				Max	0:00:16	0:01:20	1:15:00	0:00:09	0:01:48	0:03:56	0:04:17	0:13:35

4 DISCUSSION

La raison primordiale pour l'utilisation d'une anesthésie est, selon [26], éthique. Cet auteur indique, que pour l'utilisation des animaux dans des expériences, l'opérateur doit reconnaître un animal qui souffre et, par conséquent, minimiser cette douleur par des mesures préventives et de les contrôler en utilisant des produits analgésiants ou anesthésiants. Dans ce contexte, nos données d'étude permettent de mettre en évidence l'efficacité de l'huile essentielle de clou de girofle pour l'anesthésie d'*Oreochromis niloticus*, espèce principale d'élevage en Côte d'Ivoire.

Il ressort de notre étude, qu'à l'instar de ce qui est observé chez les Smolts de saumon atlantique [27], l'huile de clou de girofle s'avère pour les spécimens de *O. niloticus*, un anesthésique plus performant que le 2-phenoxyethanol. Comparativement, il a un effet anesthésiant à des doses nettement plus faibles, soit 0,02 à 0,04 ml /L d'eau (0,2 à 0,4 ml pour 10 L d'eau), contre 0,5 ml /L, d'eau (5 ml pour 10 L d'eau) pour le 2-phenoxyethanol. Comparativement, même si les concentrations des deux anesthésiques testés ne diffèrent pas significativement, la dose minimale d'huile de clou de girofle avec un effet anesthésiant sur *O. niloticus* (0,02 ml /L d'eau) est comparativement diminuée de 25 fois. Nos observations corroborent celles de [23] qui indiquent également, à l'issue de tests réalisés sur les smolts de saumon atlantique, que l'huile

de clou de girofle est plus performant que le 2-phénoxyéthanol, car agissant à de plus faibles concentrations. Les doses minimales efficaces et optimales d'huile essentielle de clou de girofle obtenues pour l'anesthésie de *O. niloticus* enregistrées dans notre étude sont, par ailleurs, nettement inférieures à celles utilisées par [23] (0,3 ml et 0,4 ml pour 10 L d'eau) pour anesthésier une autre espèce du même genre, *Oreochromis aureus* (Steindachner, 1864). Concernant le 2-Phénoxy-éthanol, la dose optimale efficace sur *O. niloticus* mise en évidence dans notre étude correspondant à 0,5 ml/L d'eau est juste supérieure d'un dixième de millilitre à celle utilisée pour l'anesthésie de *O. aureus*, en vue d'implantation d'émetteurs radio dans la cavité ventrale [28], [29], [30].

Pour ce qui concerne le processus d'anesthésie proprement dit, les deux anesthésiques testés se caractérisent par la rapidité d'anesthésie des spécimens de *O. niloticus*. Toutefois, le temps optimal pour la perte des réflexes de *O. niloticus* est relativement plus élevé avec le 2-Phénoxyéthanol (entre 1 min 36 et 4 min 08 s), qu'avec l'huile essentielle de clou de girofle pour laquelle, l'endormissement des poissons est observé en un temps bref, e.g. entre 31 s et 1 min 56 s. Même si le temps d'induction de l'anesthésie par les deux anesthésiques testés est proche, le second anesthésique est plus efficace. De plus, [23] indiquent, que l'huile de clou de girofle présente un facteur de sécurité correspondant à la marge existante entre les concentrations efficaces et les concentrations toxiques, plus élevé. Ce qui permet des temps d'exposition plus importants du poisson anesthésié avec cet anesthésique. Par contre, la marge de sécurité concernant le 2-Phénoxyéthanol est étroite. En effet, la dose anesthésiante pour les Salmonidés est de 0,2 – 0,3 ml/L d'eau, alors que la dose létale est de 0,5 ml/L [31].

Le facteur de sécurité, pour ce qui concerne *O. niloticus*, n'a pas été étudié dans le cadre de la présente étude. Toutefois, les doses minimale et optimale efficace d'huile de clou de girofle sur *O. niloticus* résultant de nos travaux sont inférieures ou égales à celles utilisées par [23] et par [27]. Comme observé chez *O. aureus* [23], espèce du même genre, et du Salmonidé *Salmo trutta* [27], ces doses n'ont entraîné chez *O. niloticus*, aucun traumatisme, aucune toxicité, ni stress post-anesthésie chez les individus traités. Comme indiqué plus haut, les spécimens anesthésiés ont conservé leur position d'équilibre sans la perdre, sauf au toucher. Contrairement, les poissons traités à l'aide du 2-Phénoxyéthanol perdent leur position d'équilibre une fois anesthésiés et se couchent sur le flanc.

La position d'équilibre observés chez les spécimens de *O. niloticus* anesthésiés à l'aide de l'huile de clou de girofle est sans doute lié au fait que cet anesthésique dans son mécanisme d'action, comme indiqué par [32], shunte temporairement les systèmes sensoriels, en particulier, ceux liés à la nociception, afin que l'animal ne perçoive pas les simulations produisant la douleur. En effet, diffusée par balnéation dans le système sanguin à travers les branchies et distribuée à tous les organes, l'huile de clou de girofle entraîne la diminution du rythme respiratoire avec pour corollaire, la déconnexion du système nerveux central. Les organes étant déconnectés et le système nerveux restant fonctionnel permet au poisson anesthésié de garder la position d'équilibre.

Pour ce qui relève du bien-être des spécimens de *O. niloticus* anesthésiés, les deux anesthésiques testés ont une caractéristique commune. Le temps nécessaire pour les mensurations morphométriques des spécimens anesthésiés, soit 2 à 4 min, est observé sans que les poissons ne se réveillent. Des résultats comparables ont été obtenus pour d'autres espèces de poissons. Par exemple, chez les Smolt de saumons, les poissons sont pesés et mesurés avec un temps de recouvrement comparable, soit en moins de 4 min en moyenne [13].

Après anesthésie, le réveil des poissons dès leur mise en eau dans l'eau sans anesthésiques est quasi instantané, contrairement aux indications de [31] mentionnant une période d'induction plus longue. Les premiers mouvements operculaires au bout de 2 à 20 s (soit de 5 ± 5 s à 6 ± 2 s en moyenne) avec l'huile de clou de girofle aux doses minimale et optimale, contre 6 à 17 s pour le 2-Phénoxyéthanol avec une moyenne de 10 ± 4 s. La nage complète est observée sans perturbation notable au bout de 02: 10 \pm 01: 42 à 03: 07 \pm 01: 10 avec l'huile essentielle de clou de girofle et de 02: 49 \pm 01: 26 avec le 2-Phénoxyéthanol. Comme observé, ces temps de récupération enregistrés pour la nage complète des poissons soumis à l'action de ces deux anesthésiques sont presque similaires. Les truites communes, *Salmo trutta* anesthésié à l'huile de clou de girofle observent également un temps de récupération semblable pour la nage complète [16].

Pour ce qui relève du bien-être des poissons à anesthésier, des pisciculteurs et des consommateurs de ce poisson d'élevage, l'utilisation de l'huile de clou de girofle est sans danger car non nocif, ni pour l'homme, ni pour les poissons [27]. Cela, contrairement au 2-Phénoxyéthanol qui est une toxine faible pouvant causer l'irritation de la peau, des yeux [21] et des dommages hépatiques et rénaux [22], des changements dans les taux plasmatiques de cortisol [4], et la perturbation du métabolisme du glucose et des lactates [31]. L'huile de clou de girofle a l'avantage d'être peu coûteux et agit à de faibles doses comme observé en Côte d'Ivoire. Son coût de revient dans les officines thérapeutiques en Côte d'Ivoire est de l'ordre de 15 000 – 20 000 F CFA pour la dose de 100 ml. Enfin, son facteur de sécurité important, voir sa plage entre concentrations efficaces et concentrations toxiques [23], constitue un atout pour son utilisation dans les exploitations piscicoles pour la manutention des poissons. [32] indiquent, que l'huile essentielle de clou de girofle et, en particulier son actif l'eugénol, sont appropriés pour

l'usage en aquaculture commerciale que d'autres molécules, eu égard à leurs propriétés antimicrobienne et antifongique. De plus, comme également observé dans notre étude, les poissons récupèrent rapidement leurs fonctions physiologiques au réveil [31]. D'où leur utilisation en Nouvelle Zélande sous la forme d'une préparation composée contenant 50% d'isoeugénol et de polysorbate 80 [32]. Cependant, l'eugénol a des interactions avec l'axe corticotrope, notamment pour ce qui concerne la production de cortisol, et des effets possibles lors d'usage répétés sur la prise d'aliments et éventuellement la croissance. Aussi, même si les marges d'utilisation sont grandes, la limite maximum de résidus (LMR) définie par le règlement européen (n° 37/2010) pour l'isoeugénol est-elle de 6000 µg/kg de chair – muscle et peau en proportion naturelle. Par conséquent, la formation de l'utilisateur est recommandée et le taux de dilution recommandée pour sa préparation, soit 1/10 dans l'éthanol absolu, est recommandé [32]. Quant au 2-Phenoxyethanol, comme l'indique [31], son potentiel de toxicité et ses effets importants sur le système cardiovasculaire font que cet anesthésique n'est pas conseillé pour les les poissons, sauf à très faible dose comme antiparasitaire externe.

5 CONCLUSION GENERALE

Au terme de notre étude, il ressort que l'huile de clou de girofle est un anesthésique plus performant que le 2-Phenoxyethanol. Il a un pouvoir anesthésique plus efficace et agit à très faible dose. L'huile de clou de girofle qui présente des avantages comparatifs, notamment, sa non toxicité et sa rapidité d'anesthésie font également de cette substance, un bon candidat pour l'anesthésie de masse des spécimens de cette espèce. Aussi, son utilisation par les pisciculteurs devrait-elle contribuer lors des opérations de manutention en élevage, à améliorer le bien-être de ce poisson.

REFERENCES

- [1] Johnston, C., 2003. Welfare Considerations in Aquatic Animals. In: ANZCCART Humane Science News 16 (2): 1–4. http://www.adelaide.edu.au/ANZCCART/news/ANZCCART_NEWS_2_2003.pdf
- [2] Protection suisse des animaux PSA, 2012. Bien-être animal dans les piscicultures Etude sur la littérature spécialisée et analyse effectuée par la Protection Suisse des Animaux PSA en relation avec une pisciculture conforme aux besoins des espèces. Rapport, Protection suisse des animaux PSA, Protection Suisse des Animaux PSA, Sara Wehrli, Service spécialisé Animaux sauvages, Dornacherstrasse, Suisse, www.protection-animaux.com, 104 p.
- [3] Anestidou L., Kinter L. B. et E. P.-Kane, 2017. Bien-être des animaux de laboratoire: l'horizon s'éclaircit Les progrès en matière de bien-être animal au XXIe siècle. In: OIE (ed.). Le bien-être animal, un atout pour l'élevage. Bulletin OIE, *Protéger les animaux, préserver notre avenir*, Organisation Mondiale de la Santé Animale (OIE), ISSN 1684-3762 Copyright © OIE 2017, <http://dx.doi.org/10.20506/bull.issue.2017.1.2586>.
- [4] Ackerman P. A., J. D. Morgan et G. K. Iwama, 1994. Les Anesthésiques. Poissons - Anesthésie, Canadian Council on Animal Care, 25 p. https://ccac.ca/Documents/Normes/Lignes_directrices/Poissons_Anesthesie.pdf
- [5] Escudero M. D., 2018. Bien-être des poissons en aquaculture. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Ecole vétérinaire d'Alfort, Faculté de médecine de Créteil.
- [6] Iwama G.K. et Ackerman P.A., 1994. Anaesthesia. In: P.W. Hochachka et T.P. Mommsen (Eds.). *Biochemistry and Molecular Biology of Fishes*, vol. 3. pp. 1-15. Amsterdam, Elsevier Science B.
- [7] McFarland W.N. et Klontz G.W. (1969) Anesthesia in fishes. pp. 1535-1540. Federal Proceedings.
- [8] Mattson N.S. et Rippe T.H., 1989. Metomidate, a better anesthetic for cod (*Gadus Morhua*) in comparison with benzocaine, MS-222, chlorobutanol, and phenoxyethanol. *Aquaculture* 83 (1-2): 89-94.
- [9] Gilderhus P.A. et Marking L.L. (1987) Comparative efficacy of 16 anesthetic chemicals in rainbow trout. *North American Journal of Fisheries Management* 7: 288-292.
- [10] Endo, T., K. Ogishima, H. Tanaka, and S. Ohshima, 1972. Studies on the effect of eugenol in some fresh water fishes. *Bull. Japanese Society of Scientific Fisheries*. 38: 761–767.
- [11] Hikasa, Y., K. Takase, T. Ogasawara & S. Ogasawara, 1986. (1986). Anesthesia and recovery with tricaine methanesulfonate, eugenol and thiopental sodium in the carp, *Cyprinus carpio*. *Japanese Journal of Veterinary Science*. 48: 341–351.
- [12] Soto C. G. and C. G. Burhanuddin, 1995. Clove oil as a Fish anaesthetic for measuring length and weight of rabbitfish (*Siganus lineatus*). *Aquaculture* 135: 149–152.
- [13] MUNDAY, P.L. & S.K. WILSON. (1997). Comparative efficacy of clove oil and other chemicals in anaesthetization of *Pomacentrus amboinensis*, a coral reef fish. *J. Fish Biology*. 51: 931–938.
- [14] Peake S., 1998. Sodium bicarbonate and clove oil as potential anesthetics for nonsalmonid fishes. *N. Am. J. Fish. Manag.*, 18, 919-924.

- [15] Waterstrat P.R., 1999. Induction and recovery from anesthesia in channel catfish *Ictalurus punctatus* fingerlings exposed to clove oil. *J. World Aquaculture Soc.*, 30 (2), 250-255.
- [16] 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. *N. Am. J. Fish. Manag.*, 17, 301-307.
- [17] Taylor P.W., Roberts S.D., 1999. Clove oil: an alternative anaesthetic for aquaculture. *N. Am. J. Aquaculture*, 61, 150-155
PNF – 01 – P. Anesthésie des poissons. <https://docplayer.fr/amp/17200202-Pnf-01-p-anesthesie-des-poissons.html>.
- [18] Erdmann M. V., 1999. L'essence de girofle: une alternative «écologique» à l'emploi du cyanure dans l'industrie des poissons de récif vivants ? Ressources marines et commercialisation - Bulletin de la CPS n° 5 — Septembre 1999.
- [19] CNESST, 1988. Fiche complète pour l'huile de clou de girofle. Fiche technique, Commission des normes, de l'équité, de la santé et de la sécurité du travail (CNESST).
https://reptox.cnesst.gouv.qc.ca/Pages/fiche-complete.aspx?no_produit=265371&no_seq=3&incr=0.
- [20] Merck & Company (1989) The Merck Index, 11e éd. 1606pp. Rahway, New Jersey: Merck & Company.
- [21] Bell G. (1987) An outline of anesthetic and anesthesia for salmonids, a guide for fish culturists in British Columbia. 16pp. Canadian Technical Report of Fisheries Aquatic.
- [22] Summerfelt R.C. and L. S. Smith, 1990. Anesthesia, surgery and related techniques. In: SCHRECK C.B. and MOYLE P.B. Eds., *Methods for fish biology*, Am. Fish. Soc., Bethesda, Maryland, 213-272.
- [23] Chanseau M., S. Bosc, E. Gallay and G. Oules, 2002. L'utilisation de l'huile de clou de girofle comme anesthésique pour les smolts de saumon atlantique (*Salmo salar* L.) et comparaison de ses effets avec ceux du 2-phenoxyethanol. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* 365–366 (365-366). DOI: 10.1051/kmae: 2002054.
- [24] UQAR-CPA-33-67, 2008. Anesthésie des poissons. PNF-01-P-UQAR-CPA-33-67 du 17 avril 2008, CCPA, 5 p. <https://docplayer.fr/17200202-Pnf-01-p-anesthesie-des-poissons.html>.
- [25] UQAR-CPA-56-122, 2014. Anesthésie des poissons. PNF-01-P-UQAR-CPA-56-122 du 20 février 2014, CCPA, 5 p. <https://docplayer.fr/17200202-Pnf-01-p-anesthesie-des-poissons.html>.
- [26] El Wakil A., 2010. Formation à l'expérimentation animale: Interventions chirurgicales sur les animaux, anesthésie et euthanasie. Neurobiologie, Université d'Alexandrie, Institut de Pharmacologie Moléculaire et Cellulaire, CNRS UMR 6097, Université de Bordeaux, Agence Universitaire Francophone (AUF), France, 13 p.
- [27] Gosset et Rives, 2005. Anesthésie et procédures chirurgicales pour l'implantation de radio-émetteurs dans la cavité ventrale de truites communes adultes (*Salmo trutta*). *Bull. Fr. Pêche Piscic.* (2005) 374: 21-34.
- [28] Smit G. L. and A. P. Burger., 1979. Haematological assessment of the anesthetic M-222 in natural an neutral form of three freshwater Fish species: intra species differences. *J. Fish Biol.* 15, 645-653.
- [29] Moore A., G. D. Picket, D. R. Eaton, 1994. A preliminary study on the use of acoustic transmitters for tracking juvenile bass (*Dicentrarchus labrax*) in estuary. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.* 74, 451 – 454.
- [30] Thoreau X. and E. Baras, 1997. Evaluation of surgery procedures for implanting telemetry transmitters into the body cavity of tilapia *Oreochromis aureus*. *Aquat. Living Resour.* 10 (4): 207-211. DOI: <https://doi.org/10.1051/alr: 1997022>.
- [31] Vast C., 2018. Anesthésie générale des poissons. Club de l'histoire de l'anesthésie et de la réanimation (CHAR), Conférence de la 29^e réunion scientifique du CHAR, 18 septembre 2013. <https://char-fr.net/Anesthesie-generale-des-poissons>.
- [32] Javahery S., Nekoubin H., Moradlu A. H., 2013. Effet de l'anesthésie des poissons avec de l'huile de clou de girofle (une synthèse) / Effect of anaesthesia with clove oil in fish (review). *Fish Physiology and Biochemistry*, 2012, Vol. 38 (6), p. 1545-1552 - Doi: 10.1007/s10695-012-9682-5.