
Instrumentation de cages pour la mesure et la gestion à distance du bien-être des animaux de laboratoire

Belkacem Messaoudi¹, Damien Gervasoni¹, Hervé Hugueney¹, Nadine Ravel¹, Clément Saudet¹, Bruno Favre², Christine Marguet², Dominique Ligot²

1. CRNL, Codage et mémoire olfactive, Inserm U1028 - CNRS UMR5292
CH Le Vinatier bât 452, 95 bld Pinel, 69675 Bron Cedex, France
belkacem.messaoudi@cnr.fr

2. ARThémIs, IUT Lyon 1, Université Lyon 1, 17 rue de France
69627 Villeurbanne Cedex France

RÉSUMÉ. Dans le cadre des neurosciences, pour l'étude de la mémoire épisodique, les laboratoires de recherche analysent le comportement de petits animaux. Nous présentons dans cet article l'instrumentation développée pour une supervision des cages via internet. Cette instrumentation multidisciplinaire permet la supervision de l'environnement et du bien-être de l'animal (mesure de la température, du taux d'hygrométrie, de la quantité d'eau bue et capture d'images de l'animal permettant de s'assurer de sa mobilité avec alerte en cas de signes inquiétants) et la gestion de l'apport hydrique (automatisation de l'accès à la boisson, programmation de la fréquence de ces accès et du volume d'eau délivré). Elle assure l'accès à l'ensemble des données ainsi que leur paramétrage via une interface web et l'envoi d'alertes automatiques adressées aux scientifiques, en cas de problème.

ABSTRACT. In neuroscience for the study of episodic memory, and more generally for behavioral studies, research laboratories monitor and analyze small animal behavior. Here we introduce an instrumentation developed for an online supervision of home cages via internet. This multidisciplinary instrumentation allows a continuous supervision of the animal's environment and well-being (measure of temperature and humidity, amount of drinking water consumed and image snapshots to check the animal's mobility, with an alert in case of trouble or occurrence of worrying signs) and a management of drinking water supply (automatized access to water and programmable access periods and volume delivered). It ensures an access to all the data as well as their settings through a convenient web interface and an automatic sending of alert messages in case of trouble. This instrumentation is fully functional, satisfies our first expectations and already offers numerous perspectives.

MOTS-CLÉS : instrumentation, supervision à distance, contrôle d'apport hydrique, animaux de laboratoire, bien-être.

KEYWORDS: instrumentation, online supervision, controlled supply of drinking water, laboratory's animal, well-being.

DOI:10.3166/I2M.15.3-4.73-93 © 2016 Lavoisier

1. Introduction

Dans le cadre des neurosciences, pour l'étude de la mémoire épisodique et plus largement les études comportementales, les laboratoires de recherche analysent le comportement de petits animaux. En période de repos, ceux-ci sont installés dans des cages individuelles avec accès à la nourriture et à la boisson. Afin de mieux veiller à leur bien-être, une supervision à distance des cages est souhaitable, en complément des règles en vigueur en expérimentation, impliquant notamment la présence quotidienne des expérimentateurs (Directive 2010/63/UE) et des recommandations usuelles du suivi du bien-être animal (FELASA working group *et al.*, 2014). Pour cela, l'instrumentation développée doit permettre de gérer nourriture (distributeur de croquettes) et boisson (pompe à eau), de mesurer les conditions environnementales (capteurs de température et d'hygrométrie), et de visualiser des images de l'animal représentatives de son état général (caméra), en instantané ou différé (cf. figure 1). Ces diverses données sont essentielles, notamment lorsque les protocoles expérimentaux nécessitent des restrictions alimentaires ou hydriques (Rowland, 2007), et doivent être accessibles à tout moment par les chercheurs, quel que soit l'endroit où ils se trouvent via un site sécurisé permettant ainsi une surveillance des animaux à distance. De plus, en cas de problème, cette instrumentation doit générer instantanément des alertes automatiques adressées aux scientifiques.

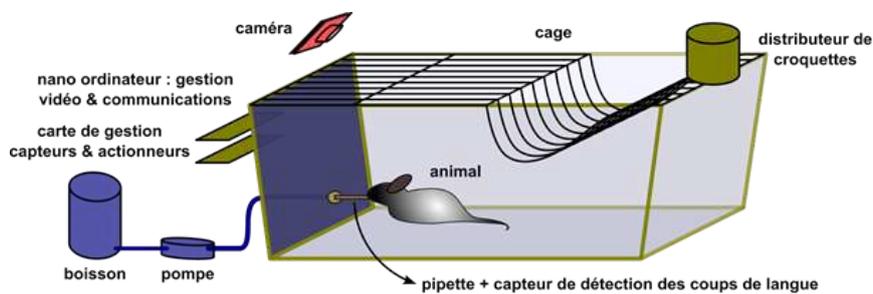


Figure 1. Schéma de la cage instrumentée

2. Contexte scientifique

La mémoire n'est pas une entité unique. Elle est composée de sous-systèmes de mémoire dont fait partie la mémoire épisodique, souvenir des événements et des circonstances dans lesquelles ils ont eu lieu. La mémoire épisodique peut être définie comme étant la capacité de l'animal à se souvenir d'un objet ainsi que de sa localisation dans un contexte donné (quoi ?, où ?, dans quel contexte ?). Il a été montré que le rat est capable de combiner et de reconnaître ces trois types d'informations lorsqu'on lui présente une situation de rappel quelques jours ou quelques semaines plus tard (Veyrac *et al.*, 2015 ; Allerborn *et al.*, 2016). La

reconnaissance qui est faite de l'objet rencontré dans ce contexte peut être de deux types : soit un sentiment de familiarité simple pour un item déjà rencontré, soit un processus permettant de rappeler les circonstances précises dans lesquelles cet item a été rencontré. Pour mettre en place et valider une tâche de mémoire épisodique, consistant pour les rats à combiner les trois types d'informations, les animaux sont motivés par des récompenses hydriques, une solution sucrée (renforcement positif) associée à une odeur et un endroit unique, toutes les autres combinaisons étant associées à une solution amère (renforcement négatif). La construction de cette tâche a pour but de voir comment la représentation d'un évènement se met en place et de tester le rappel d'un épisode à court et à long terme. Les résultats obtenus montrent que les rats sont capables de combiner et de se rappeler les informations olfactives, spatiales et contextuelles perçues lors d'un évènement unique et d'adapter leur comportement en conséquence pour rechercher un renforcement positif (Torquet *et al.*, 2014 ; Veyrac *et al.*, 2015 ; Chapuis *et al.*, 2009 ; Allerborn *et al.*, 2016).

Pour que l'animal accepte de suivre le protocole de l'expérience, il doit être suffisamment motivé et pour cela placé en restriction hydrique. Cette restriction d'accès à l'eau est soigneusement contrôlée : elle ne doit pas être trop sévère pour ne pas altérer l'état physiologique des animaux, mais suffisante et stable dans le temps pour les inciter à rechercher la boisson lors des tests comportementaux. Avant toute expérience, pendant leur acclimatation aux conditions de laboratoire les animaux ont un accès illimité à l'eau et leur consommation quotidienne est mesurée. Une semaine après, une restriction progressive est introduite. Les deux premiers jours l'accès à l'eau est donné 2 h le matin (9-11 h) puis 2 h l'après-midi (16-18h). Les deux jours suivants, l'accès est restreint à une heure le matin et une heure l'après-midi. Enfin, pendant les sept jours suivant, l'accès est réduit à 40, puis 30 minutes. Tout au long de la période, le bien-être est surveillé : on s'assure notamment que le poids des rats se maintient au-dessus de 90 % de leur poids initial avant restriction, et que la ration totale délivrée dans les plages imparties est similaire à celle de la période sans restriction. Enfin, les animaux en cours d'expérience sont habituellement répartis en deux groupes, un premier testé le matin, le second étant testé l'après-midi ; afin d'éviter une restriction trop longue, les animaux du second groupe bénéficient le matin d'un courte période d'accès à l'eau (de 5 à 10 minutes).

3. Présentation de l'instrumentation

3.1. Cahier des charges

L'instrumentation de chaque cage doit permettre :

- la supervision du bien-être de l'animal,
- la gestion de l'apport hydrique,
- l'accès à l'ensemble des mesures et au paramétrage des grandeurs de contrôle *via* une interface web.

La supervision du bien-être de l'animal se fera à deux niveaux, le contrôle de la qualité de son environnement par des mesures de la température et du taux d'hygrométrie ambiants et le contrôle de son comportement par l'enregistrement de la quantité d'eau bue au cours de la journée et l'acquisition d'images qui renseignent sur sa mobilité. De plus, une alerte sera émise par courrier électronique en cas de signe inquiétant détecté (température ou hygrométrie inadaptée, quantité bue insuffisante).

L'apport hydrique sera géré de façon à assurer à la fois le bien-être de l'animal et sa mise en condition dans la cadre du protocole expérimental. Ainsi, durant les périodes de repos, l'animal aura un accès automatique à la boisson dans des plages horaires et pour un volume maximal prédéfinis.

L'interface web d'une part, permettra la saisie des différents paramètres : les seuils d'alerte (température minimale et maximale, quantité bue insuffisante), les paramètres de contrôle de l'apport hydrique (heures de début et de fin de mise à disposition de la boisson, volume bu mettant fin à la mise à disposition), et les paramètres de capture d'images (fréquence, durée d'archivage des images). D'autre part, elle permettra l'affichage des grandeurs mesurées en fonction du temps (température, quantité bue) et des images de l'animal dans son environnement.

Plusieurs contraintes ont été prises en compte pour cette réalisation :

- assurer la confidentialité et la sécurité des données et des utilisateurs authentifiés du serveur internet car l'expérimentation animale est un domaine sensible pouvant être la cible d'attaques,
- garantir la robustesse du système (serveur alimenté par onduleur) afin de maintenir la surveillance des animaux en cas de coupure électrique,
- éliminer le bruit généré par les actionneurs afin de ne pas stresser l'animal,
- minimiser le coût de cette instrumentation permettant ainsi sa duplication en grand nombre afin de gérer plusieurs cages simultanément.

3.2. Environnement matériel

L'environnement matériel est constitué, pour chaque cage (cf. figure 2), d'un nano-ordinateur Raspberry Pi qui communique avec le serveur de réseau, gère la caméra et réalise l'interface avec la carte électronique. Cette dernière comporte un module intégrant un processeur PSoC et les transistors de commande des moteurs pas à pas. Elle permet de gérer :

- les capteurs : capteur de température et d'hygrométrie, capteur capacitif de type CSD (CapSense® with sigma delta modulator) pour le comptage des coups de langue ;
- les actionneurs : une pompe péristaltique avec moteur à courant continu ou une pompe péristaltique plus précise pilotable avec un moteur pas à pas.

Le serveur internet centralise :

- le site internet comportant une page d'accueil avec gestion des droits d'accès et, pour chaque cage, une page d'affichage des mesures et des images ainsi qu'une page de paramétrage ;
- les scripts qui permettent l'acquisition et le stockage de données (température, quantité bue, images), ainsi que le pilotage des actionneurs et l'envoi d'alertes.

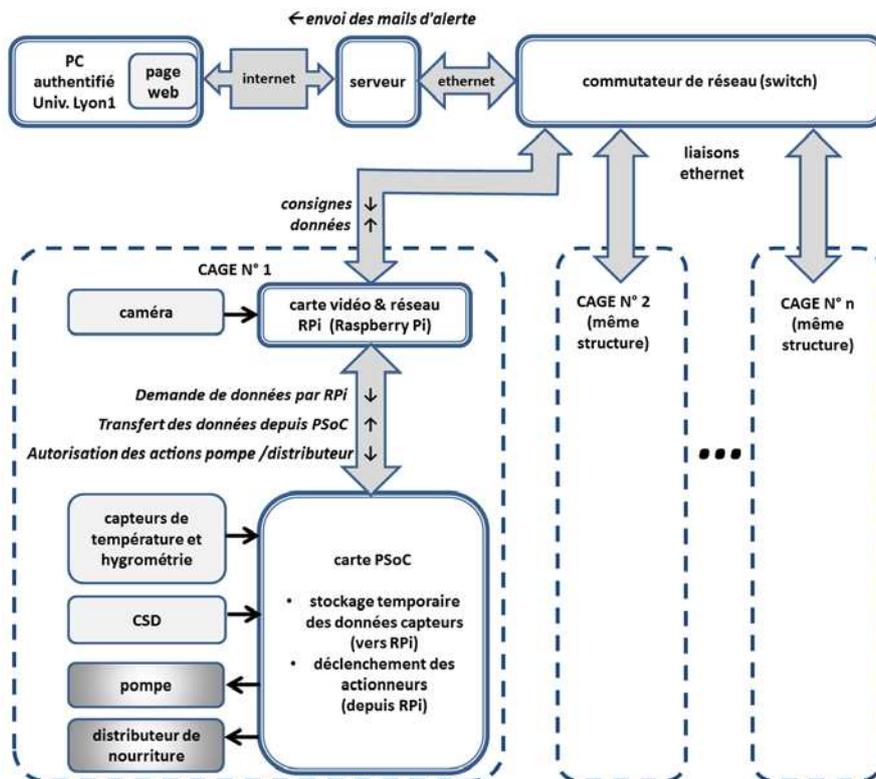


Figure 2. Synoptique de l'instrumentation des cages

3.3. Choix technologiques

Le détail des choix technologiques retenus pour assurer chacune des fonctions est présenté ci-après.

3.3.1. Gestion vidéo et réseau : nano-ordinateur Raspberry Pi2

Le Raspberry Pi2 est un nano-ordinateur, de la taille d'une carte bancaire. Il utilise un système d'exploitation libre, Raspbian, basé sur la distribution GNU/Linux

Debian. Il est capable de supporter un serveur de réseau et donc d'assurer la communication ethernet. Il reçoit les consignes de fonctionnement depuis la page de paramétrage du site web (plages temporelles autorisées de distribution de boisson, seuils d'alerte). Il va assurer le cadencement du transfert des données vers la page d'affichage du site web pour le tracé de la courbe de température, de l'histogramme des coups de langue et le rafraichissement des images (cf. figure 2). Pour la capture de ces images, un module caméra (voir ci-après) est interfacé avec ce micro-ordinateur qui se charge du traitement (compression JPEG en l'occurrence) et du téléchargement vers le serveur *via* le protocole TCP/IP.

Pour récupérer les informations capteurs, la carte Raspberry Pi va émettre une demande de données vers la carte PSoC. De même, elle va gérer l'activation de la pompe.

Caractéristiques du nano-ordinateur Raspberry Pi2¹ :

- processeur Broadcom cadencé à 900 MHz,
- 4 ports USB,
- communication : UART, I2C, SPI,
- 1 port réseau ethernet,
- port SD pour charger l'operating system et stocker les données,
- port caméra CSI pour connecter la Caméra IR Raspberry Pi,
- prix : environ 20 €.

3.3.2. *Prise d'images : carte caméra Raspberry Pi NoIR équipée du capteur OmniVision OV5647 Color CMOS QSXGA 5-megapixel*

Cette carte se raccorde directement sur l'interface série caméra (CSI) du Raspberry Pi grâce à un câble en nappe. Ce bus CSI permet un débit élevé de transfert de données, en pixel par seconde.

De plus l'absence de filtre infra-rouge (NoIR) permet la capture d'images dans l'obscurité. Cette caractéristique est indispensable pour la supervision des rongeurs, ceux-ci étant essentiellement actifs la nuit.

Caractéristiques² :

- résolution des images : 5 Mpixels (2 592 × 1 944 pixels),
- 30 images/sec à 1 080 p (vidéo HD, image non entrelacée),
- 60 images/sec à 720 p,
- drivers et bibliothèques fournis,
- prix : environ 20 €.

1. <https://www.raspberrypi.org/products/raspberry-pi-2-model-b/>

2. <https://www.element14.com/community/docs/DOC-54359>

3.3.3. Gestion des capteurs et actionneurs : processeur PSoC 5LP - CY8C588LTI

Le processeur PSoC (*Programmable System-on-Chip*) est un processeur ARM cortex M3 cadencé à 84 MIPS entièrement paramétrable. Il intègre, dans un seul circuit, des fonctions numériques du type (UART, I2C, SPI, compteur Timer, etc.) et des modules analogiques du type (ADC, DAC, IDAC, AOP, comparateur, capteur capacitif). La plupart des entrées/sorties sont configurables y compris en cours d'exécution (cf. figure 3).

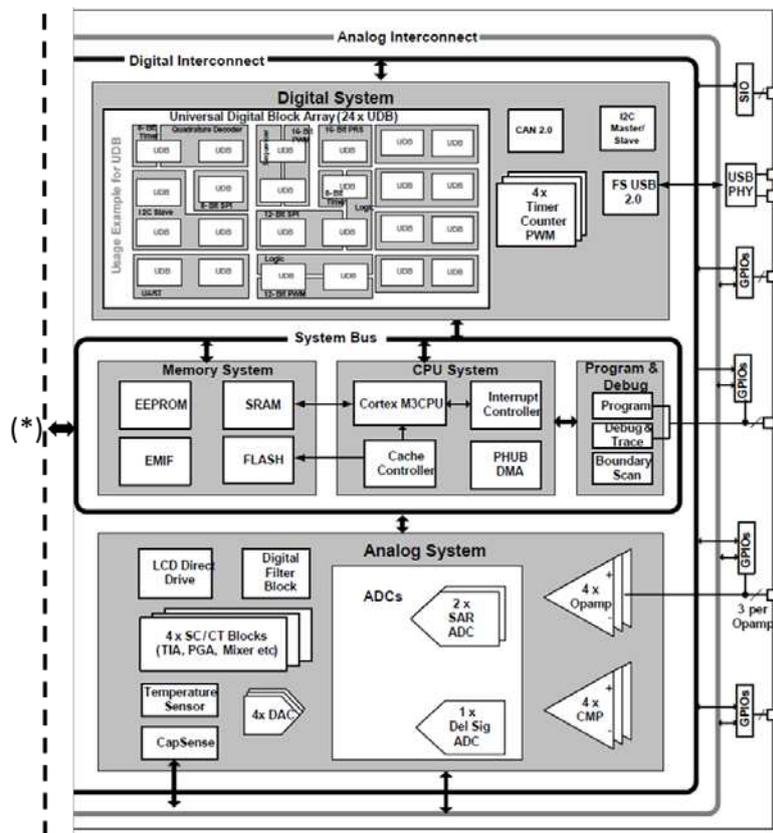


Figure 3. Extrait du schéma bloc simplifié des PSoC de la famille 5LP PSoC®5LP: CY8C58LP Family Datasheet³(*) « System Wide Resources » : ce bloc de gestion de l'alimentation et de l'horloge n'est pas représenté ici

Ce composant très flexible, idéal pour la réalisation rapide de prototype, est particulièrement bien adapté à la gestion des capteurs et des actionneurs. Il permet

3. <http://www.cypress.com/file/112756/download>; figure 1.1 : Simplified Block Diagram

de récupérer et stocker les données température et humidité ambiantes. Il gère et actionne le distributeur d'aliments et la pompe à eau en fonction des instructions transmises par le Raspberry Pi. Mais surtout, il détecte les coups de langues grâce à un capteur de présence intégré présenté au paragraphe 3.3.4.

Dans le cadre de ce développement, nous avons utilisé une carte de prototypage PSoC intégrant un programmeur et un *debugger* embarqués (CY8CKIT-059). Son coût est d'environ 10 €.

3.3.4. Détection des coups de langue : capteur capacitif

Lorsque l'animal est autorisé à boire, c'est lui qui contrôle la distribution de boisson. Chaque coup de langue est détecté par le capteur capacitif CSD et la carte électronique active la pompe délivrant une goutte au volume défini par la configuration (cf. figure 4)

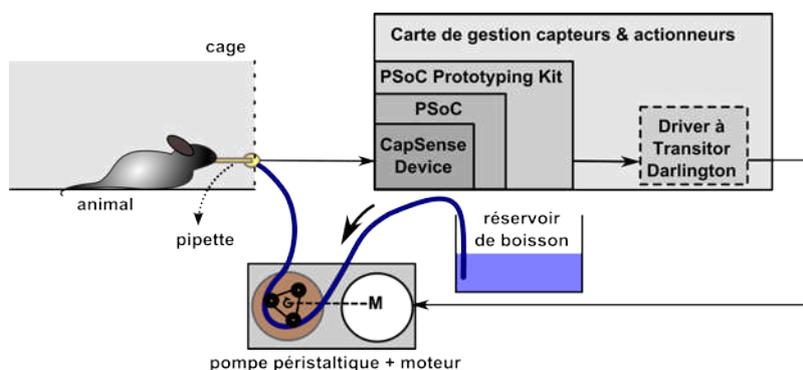


Figure 4. Asservissement de la distribution de boisson aux coups de langue de l'animal

Le capteur capacitif de proximité est intégré dans le PSoC. La sortie dédiée du PSoC est reliée à la pipette métallique délivrant l'eau, créant ainsi une capacité C_P entre la pipette et le plan de masse. Une routine d'auto calibration permet de déterminer C_P en tenant compte de l'environnement (cf. figure 5).

La langue du rat en contact avec la pipette crée une capacité C_F en parallèle avec C_P , augmentant ainsi la capacité totale équivalente $C_{equ} = C_P + C_F$.

Le CapSense® intégrant un circuit à capacités commutées et un convertisseur sigma-delta (résolution 20bits à 8 bits pour des fréquences de conversion allant de 40 Hz à 88 kHz) convertit les deux valeurs de la capacité vue par le PSoC, C_P et C_{equ} en deux niveaux logiques. Le niveau bas de référence représente la capacité C_P , le niveau haut, qui active la commande de la pompe, correspond à un coup de langue du rat.

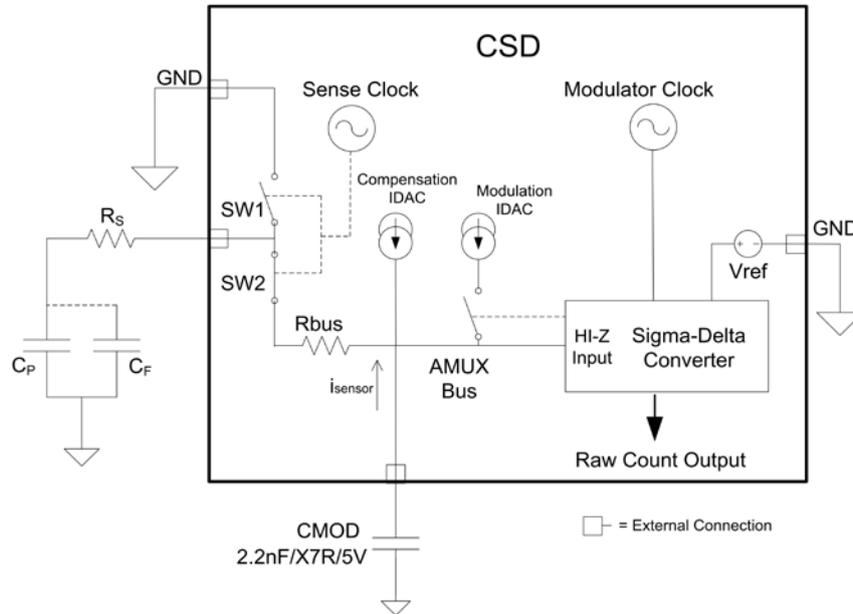


Figure 5. Schéma fonctionnel du capteur sensitif intégré (AN64846 Getting Started with CapSense®⁴)

3.3.5. Mesures de température et d'hygrométrie : capteur Sensirion SHT75

Il s'agit d'un module-capteur intelligent qui réalise la mesure de l'humidité relative grâce à un capteur capacitif et la mesure de la température grâce à un capteur intégré au silicium (silicon bandgap temperature sensor). Ces deux capteurs sont intégrés sur la même puce de silicium avec les circuits de traitements analogiques et numériques. Ainsi, les signaux issus des capteurs sont directement interfacés, amplifiés et numérisés (convertisseur analogique-numérique 14 bits) ce qui garantit une immunité aux interférences, une grande précision et une bonne fiabilité en évitant les soudures. Un circuit d'interface série permet de transmettre directement cette sortie numérique au processeur PSoC (cf. figure 6).

Ce module capteur-intelligent permet des auto-tests, une mise en veille et surtout une auto-calibration et linéarisation de la réponse avec compensation en température. En effet, chaque module est calibré individuellement en usine et les coefficients de calibration sont stockés sur la puce dans une mémoire PROM.

4. <http://www.cypress.com/file/41076/download>

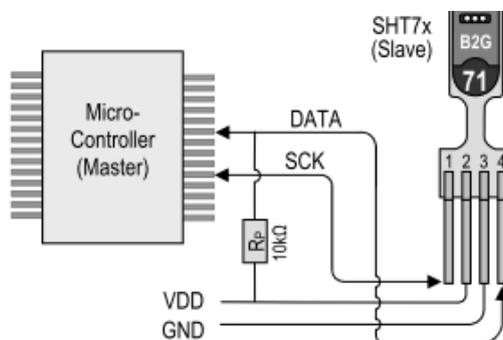


Figure 6. Utilisation du module SENSIRION SHT75⁵ : capteurs de température et d'humidité relative

- Prix du module SHT75 : environ 30 €
- Caractéristiques du capteur de température :
 - Plage de mesure : -40° à $123,8^{\circ}$,
 - Résolution $\pm 0,01^{\circ}\text{C}$; Précision $\pm 0,3^{\circ}\text{C}$; Dérive $< 0,5\ \% \text{RH/an}$,
- Caractéristiques du capteur d'humidité relative :
 - Plage de mesure $0\ \% \text{RH}$ à $100\ \% \text{RH}$,
 - Résolution $\pm 0,05\ \% \text{RH}$; Précision $\pm 1,8\ \% \text{RH}$; Dérive $< 0,04^{\circ}\text{C/an}$.

3.3.6. Distribution de boisson : pompe péristaltique

Ce type de pompe est composé de trois galets entraînés en rotation autour de l'axe d'un moteur à courant continu 12V - 260 RPM (cf. figure 7). Ces galets roulent le long d'une enceinte circulaire, sur le tuyau relié d'un côté à un réservoir de boisson, et de l'autre à la pipette. Le principe de pompage effectif, appelé péristaltisme, est basé sur la compression et la décompression alternative du tuyau, qui a pour effet l'aspiration du liquide et sa propulsion dans la pompe. Ce principe permet d'obtenir une pompe doseuse de grande précision. À chaque impulsion de commande (coup de langue), la pompe va délivrer une goutte de volume constant. Cela va permettre de connaître avec précision la quantité bue par l'animal. Un ensemble comprenant la pompe, une pipette et un réservoir, reliés entre eux par un tube, se substitue au biberon habituellement positionné sur le dessus de la cage.

5. https://www.sensirion.com/fileadmin/user_upload/customers/sensirion/Dokumente/Humidity_Sensors/Sensirion_Humidity_Sensors_SHT7x_Datasheet_V5.pdf

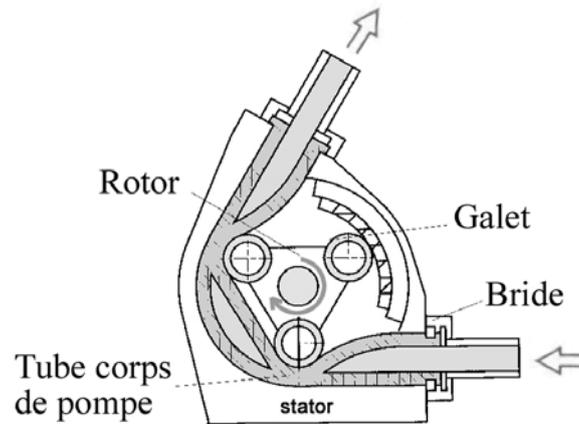


Figure 7. Pompe péristaltique⁶

4. Résultats

L'instrumentation réalisée à partir de ces choix technologiques est mise en œuvre sur une cage (cf. figure 8). Elle assure la mesure de la température et de l'hygrométrie, l'acquisition d'images, ainsi que la gestion et la détermination de la quantité d'eau bue. Le principe est développé dans le paragraphe 4.1.



Figure 8. Cage opérationnelle (photo C. Saudet)

6. http://klimafrance.com/Catalogue/Accessoires-frigo-/Condensats-/Pompes-/ASPENUNIVERSAL--Pompe-peristaltique-ASPEN-Universal-6-25L-h-14m--Pompe-peristaltique-ASPEN-Universal-6-25L-h-14m--noeud-824.html#galerie_corps_page_1011

Le site web, présenté en détail au paragraphe 4.2, permet l’affichage de ces données (cf. figure 15) et la saisie des différents paramètres de gestion du système (cf. figure 14).

Les alertes sont envoyées par mail aux administrateurs c’est-à-dire à tous les statutaires de l’équipe de recherche ainsi qu’à l’utilisateur de la cage. Le serveur est alimenté par onduleur afin de maintenir la surveillance des animaux en cas de coupure électrique. Pour assurer la sécurité du site, celui-ci n’est accessible que depuis le domaine université (soit sur place, soit par VPN) et l’utilisateur doit être enregistré dans un annuaire LDAP du laboratoire. Dans le cas particulier des étudiants, ces accès disparaissent automatiquement lorsque ceux-ci ont fini leur stage ou leur thèse. La mise à jour du linux (au niveau du serveur) est faite régulièrement par l’administrateur réseau.

Le coût global de cet équipement spécifique (Raspberry Pi, caméra, pompe, cartes électroniques, support cage en PVC) est inférieur à 200 € par cage

L’amélioration du système de distribution de nourriture est en cours de développement (voir paragraphe 5.2) afin d’éliminer le bruit généré par l’actionneur pour éviter de stresser l’animal.

4.1. Apport hydrique

La délivrance de la boisson est asservie aux coups de langue. La fréquence des coups de langue chez le rat, déterminée à partir des relevés de 100 000 coups de langue, se situe dans une plage de 6 à 10 Hz (cf. figure 9).

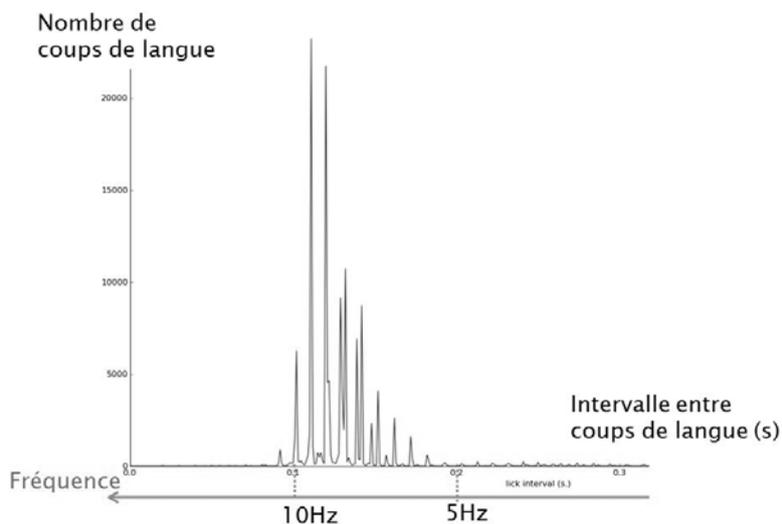


Figure 9. Plage de variation de la fréquence des coups de langue chez le rat

Lorsque le rat se présente au niveau de la pipette, une goutte est déjà présente. Le coup de langue permettant de boire cette goutte est détecté par le capteur capacitif. Le temps de contact entre la langue et la pipette est de l'ordre de 20 à 50 ms. Le front descendant de ce signal, correspondant au retrait de la langue, active la pompe pendant 8 ms afin de délivrer la goutte suivante (cf. figure 10). Le choix de cette durée d'activation, par rapport à la période des coups de langue (100 à 170 ms), garantit que tous les coups de langue sont pris en compte.

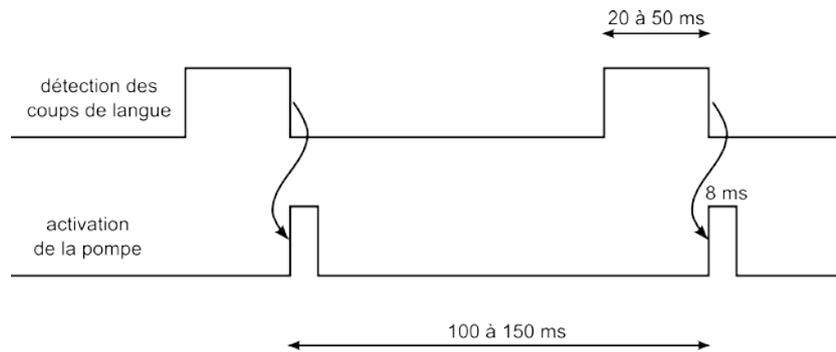


Figure 10. Chronogramme : délivrance de la boisson asservie aux coups de langue

La figure 11 présente un oscillogramme relevé en situation réelle. La voie 1 représente le signal en sortie du CapSense®, image des coups de langue. La voie 2 correspond au signal de commande de la pompe en entrée du driver à transistor Darlington (cf. figure 4).

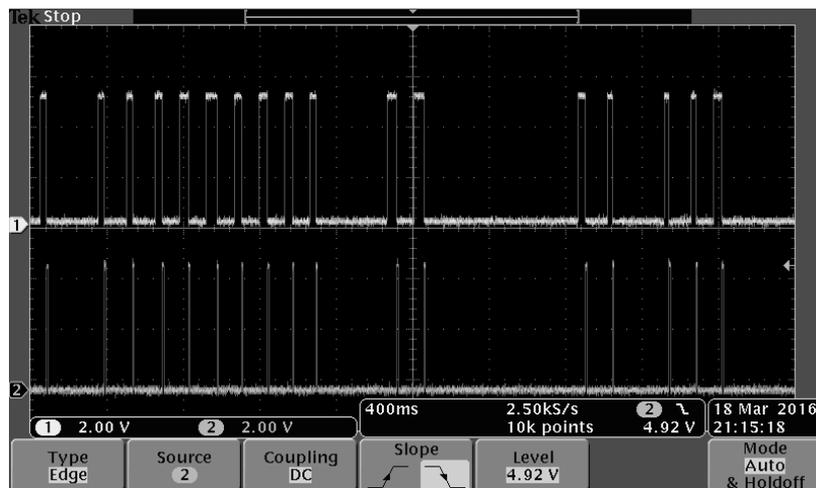


Figure 11. Oscillogramme : délivrance de la boisson asservie aux coups de langue

Trois séquences de mesure, correspondant à des fréquences de coups de langue de 6, 8 et 10 Hz, ont été réalisées afin de déterminer le volume d'eau délivré en fonction du nombre de coups de langue comptés (cf. figure 12).

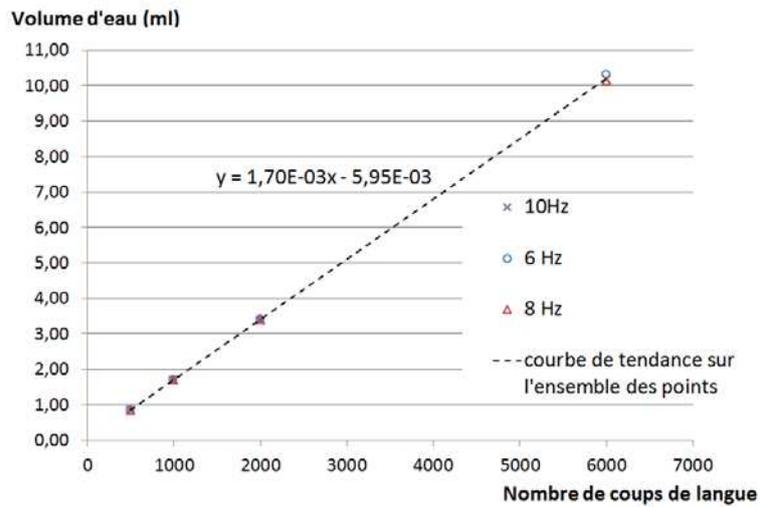


Figure 12. Volume d'eau délivré en fonction du nombre de coups de langue, pour trois fréquences (6, 8 et 10 Hz)

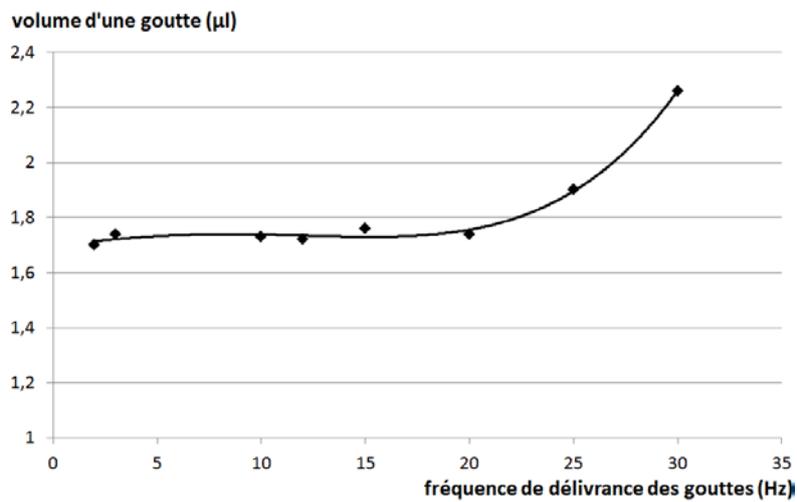


Figure 13. Volume d'une goutte en fonction de la fréquence d'activation de la pompe

La courbe de la figure 12 présente une variation linéaire du volume délivré en fonction du nombre de coups de langue. Le volume moyen d'une goutte, indiqué par la pente, est de $1,70 \mu\text{l} \pm 0,02 \mu\text{l}$.

Le coefficient de conversion entre le nombre de coups de langue et la quantité bue est ainsi défini puisque chaque coup de langue déclenche la délivrance d'une goutte : $C = 1,70 \mu\text{l}/\text{coup de langue}$.

Afin de déterminer les limites de fonctionnement du système, des mesures du volume d'une goutte, pour 1 000 coups de langue, ont été réalisées de 2 à 30 Hz. Elles montrent que le système peut fonctionner correctement sur une plage de 2 à 20 Hz avec une valeur moyenne du volume de la goutte de $1,70 \mu\text{l}$ (cf. figure 13).

4.2. Site web

Dans l'illustration de la page de paramétrage (cf. figure 14), deux cages sont instrumentées et il est donc possible de définir les paramètres pour chacune d'entre elles.

Dans le cadre du contrôle de l'apport hydrique, la plage horaire d'accès à la boisson est fixée par ses horaires de début et de fin en heures et minutes. Une quantité maximale de boisson autorisée dans cette plage peut être définie.

Pour assurer le bien-être de l'animal et intervenir si nécessaire, trois seuils d'alerte sont paramétrables : les extrema de températures acceptables, la quantité minimale que doit boire l'animal sur 24 heures. Cette quantité est déterminée grâce aux données recueillies au préalable au cours de la période d'acclimatation.

Grâce à l'étalonnage de la pompe, le volume de chaque goutte délivrée est connu avec précision. Le coefficient de conversion ($C = 1,70 \mu\text{l}/\text{coup de langue}$) permet de traduire le nombre de coups de langue en quantité bue. Le fait que ce coefficient soit paramétrable permet le changement éventuel de la pompe sans avoir à modifier les programmes.

La capture d'image permet un contrôle visuel de l'animal. L'intervalle de capture est choisi pour assurer un suivi régulier de l'animal (par exemple figure 14, une image toutes les cinq minutes). Le choix de la durée d'archivage de ces images permet *a posteriori* une analyse du comportement de l'animal (par exemple, 24 heures).

La page d'affichage du site web permet de visualiser à distance : une image de l'animal régulièrement rafraîchie, le cumul des quantités bues la veille et dans la journée en cours, la quantité d'eau bue aux différentes heures de la journée sous forme d'histogramme (cf. figure 15a).

Paramétrage

Cages sur lesquelles appliquer le paramétrage

Roucky Glouton

Choix d'une cage

Outils immédiats

Purge de la pompe

Extinction des modules

Redémarrage des modules

Boisson

	Début		Fin		
Plage 1	<input type="text" value="9"/> heures, <input type="text" value="00"/> minutes.	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="text" value="11"/> heures, <input type="text" value="00"/> minutes.	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="text" value="20"/> millilitres.
Plage 2	<input type="text" value="16"/> heures, <input type="text" value="00"/> minutes.	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="text" value="18"/> heures, <input type="text" value="00"/> minutes.	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="text" value="20"/> millilitres.
Plage 3	<input type="text"/> heures, <input type="text"/> minutes.	<input type="checkbox"/>	<input type="text"/> heures, <input type="text"/> minutes.	<input type="checkbox"/>	<input type="text"/> millilitres.
Plage 4	<input type="text"/> heures, <input type="text"/> minutes.	<input type="checkbox"/>	<input type="text"/> heures, <input type="text"/> minutes.	<input type="checkbox"/>	<input type="text"/> millilitres.

Contrôle de l'apport hydrique

Température

Seuil d'alerte bas
 °C.

Seuil d'alerte haut
 °C.

Quantité bue

Coefficient de conversion
 microlitres.coups de langue⁻¹.

Seuil d'alerte bas
 millilitres.

Seuils d'alerte :

Température

Quantité bue

Coefficient de conversion :
µl/coup de langue

Images

Intervalle de capture
 minutes.

Durée d'archivage des images
 heures.

Gestion de la capture d'images

Figure 14. Page de paramétrage du site web de supervision à distance d'une cage

Les histogrammes représentent, pour chaque heure de la journée, le cumul du nombre de coups de langue réalisés par l'animal sur la pipette pour obtenir de la boisson. Lorsque la boisson est disponible (plage horaire autorisée, quantité maximale non atteinte), les barres apparaissent dans l'histogramme en gris foncé et

la quantité bue par l'animal peut être calculée grâce au coefficient de conversion C. Lorsque la boisson n'est pas disponible (en dehors de la plage horaire autorisée ou quantité maximale atteinte), les coups de langue n'activent pas la pompe, pour autant ils sont décomptés (barres gris clair).

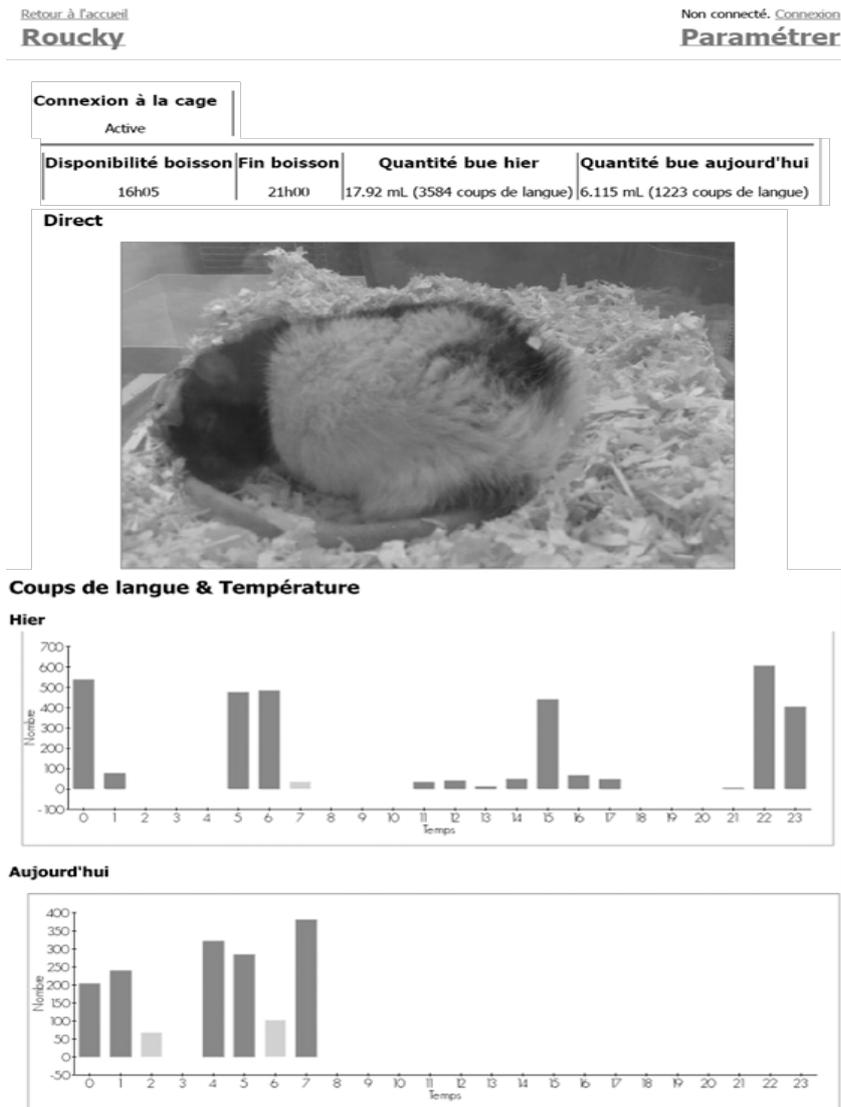


Figure 15a. Page d'affichage du site web de supervision à distance d'une cage

Sur cette même page, les variations, sur les dernières 24 heures, de la température (courbe supérieure en gris foncé) et de l'hygrométrie (courbe inférieure en gris clair) sont affichées (cf. figure 15b).

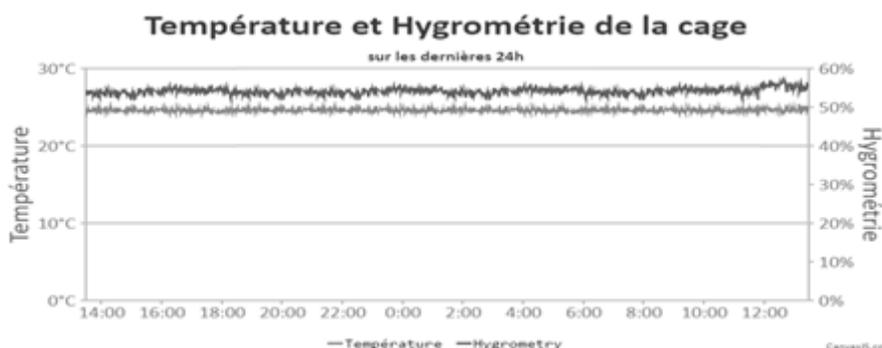


Figure 15b. Page d'affichage du site web de supervision à distance d'une cage

5. Évolutions en cours de développement

5.1. Identification des animaux par puce RFID

Les rats étant des animaux sociaux, une fonctionnalité essentielle pour leur bien-être est de les faire cohabiter à plusieurs dans une même cage. Les limites réglementaires fixent le nombre maximal d'individus en fonction de leur âge (ou poids) et des dimensions de la cage. Dès lors, identifier précisément les individus devient indispensable.

Une solution consiste en l'utilisation de puces RFID placées sur chaque animal. Le protocole FDX-B est un format usuel pour l'identification d'animaux au moyen de transpondeurs (normes ISO 11784 & 11785). Ce codage fonctionne avec une porteuse à 134,2 kHz. C'est un codage biphase, incluant un entête sur 11 bits suivi de 64 bits de données et de 18 bits de contrôle de redondance cyclique et 24 bits d'application. Plusieurs solutions peuvent être envisagées, autour des composants RWD-QT reader, ou d'une carte PSoC. Lorsqu'un animal viendra boire, ses identifiants pourront ainsi être collectés en même temps que les données caractérisant la prise de boisson.

5.2. Amélioration du système de distribution de nourriture

Dans le système actuel (cf. figure 16) la nourriture est stockée dans un réservoir. L'ouverture de la trappe de distribution est réalisée à l'aide d'un électro-aimant. Or, le bruit généré lors de sa commutation par intermittence est susceptible d'entraîner un stress chez les animaux, ce système ne répond donc pas au cahier des charges.

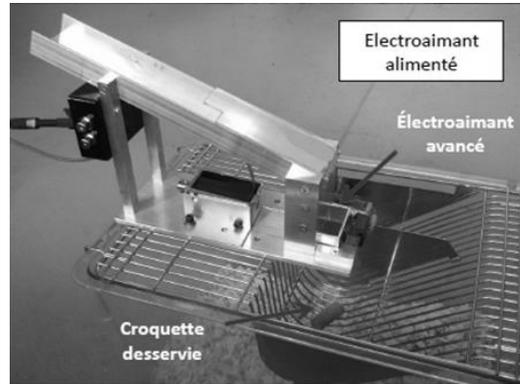


Figure 16. Système de distribution de nourriture existant

Nous envisageons d'utiliser un distributeur de nourriture à godets (cf. figure 17) destiné à l'origine à alimenter les poissons d'un aquarium (Grasslin Rondomatic 400). En remplaçant le programmeur par une roue dentée pilotée par un moteur pas à pas, on obtiendrait alors une rotation silencieuse.



Figure 17. Système de distribution de nourriture envisagé⁷

6. Conclusions et perspectives

Un premier exemplaire de cage instrumentée est opérationnel et a pu être testé en conditions réelles d'utilisation. L'instrumentation permet de veiller au bien-être de l'animal, à distance par le biais d'un site internet. En complément des visites quotidiennes des expérimentateurs et/ou zootechniciens, l'observation à distance permet de vérifier à tout moment l'état général des animaux et la survenue éventuelle de signes d'inconfort ou de mal-être. De plus, une alerte automatique est

7. http://www.zooplus.fr/shop/poissons/materiel_technique_aquarium/autres_accessoires_aquarium/distributeur_nourriture_poissons_grasslin/34224

adressée par mail aux personnes concernées en cas de franchissement des seuils préalablement fixés pour les paramètres de température et de quantité d'eau délivrée. La quantité d'eau consommée est déterminée de façon originale à partir du comptage des coups de langue de l'animal, ce qui permet un suivi précis de la consommation au coup de langue près (soit 1,7 microlitres) et une gestion individualisée des apports dans les protocoles expérimentaux incluant une restriction hydrique.

La possibilité de suivre précisément la consommation de boisson ouvre la voie à plusieurs applications, en particulier le suivi de prise d'un composé médicamenteux ou pharmacologique qui serait délivré en lieu et place de la boisson normale dans des plages horaires prédéterminées. Ce système pourrait ainsi éviter le recours au gavage ou à des injections pour l'administration d'un traitement à différents moments de la journée tout en conservant la mesure précise des quantités absorbées.

Le système ainsi réalisé est évolutif ; d'autres types de capteurs et/ou actionneurs pourront être utilisés, sans modification de la carte électronique, en fonction des besoins liés aux nouvelles expériences. De façon non exhaustive ces évolutions incluent l'identification des animaux par puces RFID et le suivi individuel de la consommation d'eau ou du poids corporel lorsque les animaux sont hébergés par groupe, la gestion des apports en nourriture solide, ou encore la mesure globale d'activité de l'animal (actimétrie). La fréquence de capture d'images étant paramétrable, il devient possible en effet de suivre un animal dans ses déplacements et d'envoyer automatiquement une alerte en cas d'immobilité anormale, par exemple après une intervention chirurgicale ou toute autre manipulation. A l'instar de ce qui est déjà pratiqué chez les animaux d'élevages (Chapinal *et al.*, 2007), le couplage d'une identification au moyen de puces RFID avec la collecte de ces données contribue au suivi du bien-être. Afin de limiter les chances de détecter deux individus pour la mesure des coups de langues, le capteur RFID pourrait par exemple être placé au plafond d'un tunnel ne permettant le passage que d'un seul rat jusqu'à la pipette. Plus généralement, cette instrumentation va permettre une surveillance renforcée du bien-être de l'animal hébergé en animalerie en dehors des expériences ou manipulations pour lesquelles un expérimentateur est présent.

Bibliographie

- Allerborn M., Gros A., Messaoudi B., Gervasoni D., Garcia S., Thevenet M., Laroche S., Veyrac A., Ravel N. (2016). *A novel task for studying memory of occasional events in rats*. Bio-protocol, vol. 6, n° 5: e1740. <http://www.bio-protocol.org/e1740>
- Chapinal N., Veira DM., Weary DM., von Keyserlingk MAG. (2007). Technical Note: Validation of a System for Monitoring Individual Feeding and Drinking Behavior and Intake in Group-Housed Cattle. *J Dairy Sci.*, vol. 90, n° 12, p. 5732-5736.
- Chapuis J., Garcia S., Messaoudi B., Thevenet M., Ferreira G., Gervais R., Ravel N. (2009). The way an odor is experienced during aversive conditioning determines the extent of the

network recruited during retrieval: a multisite electrophysiological study in rats. *Journal of Neurosciences*, vol. 29, n° 33, p. 10287-10298.

Directive 2010/63/UE du Parlement Européen et du Conseil du 22 septembre 2010 relative à la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques, <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000022990561&categorieLien=id>

FELASA working group on revision of guidelines for health monitoring of rodents and rabbits : Mähler Convenor M., Berard M., Feinstein R., Gallagher A., Illgen-Wilcke B., Pritchett-Corning K., Raspa M. (2014). FELASA recommendations for the health monitoring of mouse, rat, hamster, guinea pig and rabbit colonies in breeding and experimental units. *Lab Anim.*, vol. 48, n° 3, p. 178-192.

Rowland NE. (2007). Food or fluid restriction in common laboratory animals: balancing welfare considerations with scientific inquiry. *Comp Med.*, vol. 57, n° 2, p. 149-160.

Torquet N., Aime P., Messaoudi B., Garcia S., Ey E., Gervais R., Juillard AK., Ravel N. (2014). Olfactory preference conditioning changes the reward value of reinforced and non-reinforced odors. *Frontiers in Behavioral Neurosciences*, 8, p. 229.

Veyrac A., Alleborn M., Gros A., Michon F., Raguet L., Kenney J., Godinot F., Thevenet M., Garcia S., Messaoudi B., Laroche S., Ravel N. (2015). Memory of occasional events in rats: individual episodic memory profiles, flexibility, and neural substrate. *Journal of Neurosciences*, vol. 35, n° 19, p. 7575-7586.

