

Université de Montréal

Évaluation de la toxicité du kétoprofène chez le dragon barbu (*Pogona vitticeps*)  
*Gestion de l'inflammation et de la nociception chez les reptiles*

*Par*

Annabelle Vigneault

Département de sciences cliniques  
Faculté de médecine vétérinaire

Mémoire présenté à la Faculté de médecine vétérinaire  
en vue de l'obtention du grade de *Maîtrise ès sciences* (M. Sc.)  
en sciences vétérinaires, option sciences cliniques

Janvier 2022

© Annabelle Vigneault, 2022

*Ce mémoire intitulé*

**Évaluation de la toxicité du kétoprofène chez le dragon barbu (*Pogona vitticeps*)**

*Gestion de l'inflammation et de la nociception chez les reptiles*

*Présenté par*

**Annabelle Vigneault**

*A été évalué par un jury composé des personnes suivantes*

**Éric Troncy**

Président-rapporteur

**Claire Grosset**

Directrice de recherche

**Stéphane Lair**

Codirecteur de recherche

**Carolyn Gara-Boivin**

Codirectrice de recherche

**Inga-Catalina Cruz Benedetti**

Membre du jury

## Résumé

La cyclooxygénase (COX) 1 augmente significativement dans la peau inflammée des Ophidiens et dans les muscles inflammés des Chéloniens. Les inhibiteurs non sélectifs de la COX-1 et de la COX-2, comme le kétoprofène, pourraient donc réduire l'inflammation plus efficacement chez les reptiles que les inhibiteurs préférentiels de la COX-2. L'objectif de cette étude était d'évaluer les effets aderses potentiels du kétoprofène chez le dragon barbu (*Pogona vitticeps*). Treize dragons barbuis ont été répartis aléatoirement dans trois groupes lors d'une étude prospective, randomisée, contrôlée et en aveugle. Ils ont reçu une administration intramusculaire quotidienne d'un traitement durant 14 jours. Le groupe 1 (n = 5) a reçu de la saline, le groupe 2 (n = 4) a reçu 2 mg/kg de kétoprofène (dilué 1:10 avec de la saline) et le groupe 3 (n = 4) a reçu 20 mg/kg de kétoprofène (non dilué). Des paramètres biochimiques, des tests de sang occulte fécal et le temps de coagulation sanguine ont été évalués avant et après les deux semaines de traitements. Une évaluation histopathologique des reins, du système digestif, du foie et des muscles a été effectuée. Cliniquement, une réaction aux sites d'injections a été détectée dans le groupe 3. Il n'y avait pas de différences dans les valeurs biochimiques et les temps de coagulation avant et après les traitements, ni entre les groupes. Aucune lésion n'a été détectée à l'évaluation histologique des reins, du foie et du tractus gastro-intestinal. Des lésions histopathologiques de nécrose musculaire aux sites d'injections ont été notées dans tous les groupes et elles étaient statistiquement plus sévères dans le groupe 3 que dans le groupe 1. En conclusion, l'administration intramusculaire quotidienne de 2 mg/kg de kétoprofène dilué durant 14 jours n'a pas causé d'effets aderses chez ce petit nombre de dragons barbuis, tandis que de la nécrose musculaire sévère a été détectée suite à l'administration de 20 mg/kg de kétoprofène non dilué.

**Mots-clés** : analgésie, anti-inflammatoire non stéroïdien, antinociception, douleur, lézard, reptile

## Abstract

Cyclooxygenase (COX) 1 has been shown to increase significantly in inflamed ophidian skin and chelonian muscles. Non-selective COX-1 and COX-2 inhibitors, such as ketoprofen, could therefore reduce inflammation more effectively than preferential COX-2 inhibitors in reptiles. The objective of this study was to evaluate potential adverse effects of ketoprofen in bearded dragons (*Pogona vitticeps*). Thirteen adult bearded dragons were divided into three groups receiving daily intramuscular injections for 14 days in a prospective randomized controlled blinded study design. Group 1 (n = 5) received saline, group 2 (n = 4) received ketoprofen at 2 mg/kg (diluted 1:10 with saline) and group 3 (n = 4) received ketoprofen at 20 mg/kg (undiluted). Biochemical values, fecal occult blood tests and blood clotting time were assessed before and after the two-week treatment. Renal, digestive, hepatic and muscular histopathology was evaluated. Clinically, injection site reactions were noted in group 3 only. No other clinical adverse effects were detected. No changes were detected in plasma biochemical values and clotting times before and after treatments, nor between control and treatment groups. No lesion associated with ketoprofen toxicity was detected on histologic examination of the kidney, liver and gastrointestinal tract. Histopathological lesions of muscular necrosis at the injection sites were noted in all groups and were statistically more severe in group 3 compared to group 1. In conclusion, daily intramuscular administration of diluted ketoprofen at 2 mg/kg for 14 days did not cause adverse effects in a small number of bearded dragons, while severe muscular necrosis was detected following administration of undiluted ketoprofen at 20 mg/kg.

**Keywords:** analgesia, antinociception, lizard, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, pain, reptile

# Table des matières

<b>Résumé .....</b>	<b>3</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>4</b>
<b>Table des matières.....</b>	<b>5</b>
<b>Liste des tableaux .....</b>	<b>8</b>
<b>Liste des figures .....</b>	<b>9</b>
<b>Liste des sigles et abréviations .....</b>	<b>10</b>
<b>Remerciements.....</b>	<b>11</b>
<b>Introduction .....</b>	<b>12</b>
<b>Chapitre 1 – Revue de littérature .....</b>	<b>15</b>
1. La nociception chez les reptiles.....	15
1.1. Définitions et principes généraux.....	15
1.2. Évaluation de la nociception et de l’antinociception .....	17
2. Anti-inflammatoires non stéroïdiens .....	26
2.1. Mécanismes d’action.....	26
2.2. Sélectivité .....	28
2.3. Kétoprofène.....	30
3. Effets adverses des anti-inflammatoires non stéroïdiens.....	30
3.1. Effets adverses des anti-inflammatoires non stéroïdiens chez les mammifères.....	30
3.1.1. Effets gastro-intestinaux.....	31
3.1.2. Effets rénaux .....	32
3.1.3. Effets hépatiques .....	33
3.1.4. Effets sur la coagulation sanguine .....	33
3.1.5. Effets sur la guérison osseuse.....	34
3.1.6. Effets spécifiques du kétoprofène .....	34
3.2. Effets adverses des anti-inflammatoires non stéroïdiens chez les oiseaux .....	36
3.2.1. Effets gastro-intestinaux.....	37
3.2.2. Effets rénaux .....	37

3.2.3. Effets hépatiques .....	39
3.2.4. Effets musculaires aux sites d'injections .....	40
3.2.5. Effets spécifiques du kétoprofène .....	40
4. Inflammation et effets des anti-inflammatoires non stéroïdiens chez les reptiles ..	42
4.1. Expression de la cyclooxygénase 1 et de la cyclooxygénase 2.....	42
4.2. Utilisation des anti-inflammatoires non stéroïdiens.....	43
4.3. Études pharmacocinétiques .....	45
4.4. Études pharmacodynamiques .....	46
4.5. Effets aduerses.....	47
4.6. Caractéristiques physiologiques particulières des reptiles .....	48
5. Évaluation de la fonction des principaux systèmes pouvant être affectés par les anti-inflammatoires non stéroïdiens.....	49
5.1. Évaluation de la fonction rénale chez les reptiles .....	49
5.1.1. Paramètres hématologiques.....	50
5.1.2. Paramètres biochimiques .....	51
5.1.3. Analyses urinaires .....	54
5.1.4. Clairance de l'iohexol .....	55
5.1.5. Biopsie rénale.....	57
5.1.6. Autres paramètres de la fonction rénale chez les mammifères et les oiseaux .....	58
5.1.6.1. N-acétyl-β-D-glucosaminidase .....	58
5.1.6.2. Diméthylarginine symétrique.....	60
5.2. Évaluation de la fonction hépatique chez les reptiles.....	61
5.3. Évaluation de la présence de saignements gastro-intestinaux.....	62
5.4. Évaluation de la coagulation sanguine .....	63
6. Autres médicaments antinociceptifs utilisés chez les reptiles .....	64
6.1. Opioides.....	64
6.1.1. Butorphanol .....	66
6.1.2. Morphine .....	68

6.1.3. Hydromorphone.....	70
6.1.4. Tramadol .....	70
6.1.5. Autres opioïdes .....	73
6.2 Anesthésiques locaux .....	79
6.3 Agonistes $\alpha$ 2-adrénrgiques.....	80
6.4. Kétamine.....	82
6.5. Analgsie multimodale .....	83
<b>Chapitre 2 – Article scientifique.....</b>	<b>84</b>
1. Abstract .....	85
2. Introduction.....	86
3. Materials and methods .....	87
4. Results .....	91
5. Discussion .....	92
6. Conclusion .....	97
7. Acknowledgments.....	98
8. Figures .....	98
<b>Chapitre 3 – Résultats supplémentaires non présentés dans l’article .....</b>	<b>101</b>
1. Biopsies hépatiques et rénales guidées par endoscopie .....	101
1.1. Introduction .....	101
1.2. Matériels et méthodes .....	101
1.3. Résultats .....	103
1.4. Discussion .....	104
2. Diméthylarginine symétrique.....	106
<b>Chapitre 4 – Discussion générale .....</b>	<b>109</b>
<b>Conclusion .....</b>	<b>116</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>117</b>

## Liste des tableaux

Tableau 1. Résumé des signes comportementaux pouvant être reliés à de la nociception ou de la douleur chez les lézards, les serpents et les tortues (Duncan, 2012; Schilliger et al., 2021). .....	25
Tableau 2. Résumé des principales études évaluant l'effet analgésique des opioïdes chez les reptiles. ....	76

## Liste des figures

- Figure 1. Plasma concentrations of six biochemistry parameters before and after administration of saline (n = 5), 2 mg/kg (n = 4) or 20 mg/kg (n = 4) of ketoprofen once daily for 14 days in thirteen bearded dragons (*Pogona vitticeps*): A) Creatine kinase (CK), B) Aspartate aminotransferase (AST), C) Calcium/phosphorus ratio, D) Uric acid, E) Alkaline phosphatase (ALP), F) Total proteins. .... 99
- Figure 2. Photomicrograph of intramuscular injection site from a bearded dragon (*Pogona vitticeps*) treated with 20 mg/kg of ketoprofen once daily for 14 days showing an area of extensive muscular necrosis characterized by the presence of swollen hyperacidophilic myocytes (SM), fragmented and coagulated myocytes (arrowheads) and marked fibrosis of the interstitial space (F) infiltrated by numerous heterophils and macrophages. Unaffected myocytes are also present on this section (UM) (bar = 100 µm, hematoxylin, eosin and safran stain). .... 100
- Figure 3. Dragon barbu positionné en décubitus latéral droit maintenu par deux serviettes roulées, recouvert d'un champ chirurgical transparent, présentant une incision cœlomique à mi-chemin entre les membres thoraciques et les membres pelviens afin d'effectuer des biopsies hépatiques et rénales guidées par endoscopie. 103
- Figure 4. Concentration plasmatique de diméthylarginine symétrique (SDMA) avant et après l'administration de saline (n = 5), de 2 mg/kg (n = 4) ou de 20 mg/kg (n = 4) de kétoprofène une fois par jour durant 14 jours à 13 dragons barbuis. (Diagramme réalisé à l'aide de GraphPad Prism 9, version 9.3.1, San Diego, CA) ..... 108

## Liste des sigles et abréviations

AINS : Anti-inflammatoire non stéroïdien  
ALT : Alanine aminotransférase  
AST : Aspartate aminotransférase  
CK : Créatine kinase  
COX : Cyclooxygénase  
DFG : Débit de filtration glomérulaire  
FOB : *Fecal occult blood*  
GGT : Gamma-glutamyl transferase  
IC: Intracœlomique  
IM : Intramusculaire  
IP : Intrapéritonéale  
IV : Intraveineuse  
NA : Neuraxiale  
NAG : N-acétyl- $\beta$ -D-glucosaminidase  
NSAID : *Nonsteroidal anti-inflammatory drug*  
PGE<sub>2</sub> : Prostaglandine E<sub>2</sub>  
PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  : Prostaglandine F<sub>2 $\alpha$</sub>   
PGI<sub>2</sub> : Prostacycline  
PO : *Per os* (voie orale)  
SC : Sous-cutanée  
SDMA : Diméthylarginine symétrique  
TD : Transdermique  
TXA<sub>2</sub> : Thromboxane A<sub>2</sub>

## Remerciements

Je tiens avant tout à remercier ma directrice de recherche, Dre. Claire Grosset, de m'avoir offert l'opportunité de réaliser ce projet et pour son soutien tout au long de sa réalisation. Elle a su me transmettre sa passion pour la recherche scientifique et la médecine zoologique.

J'aimerais également remercier Prof. Stéphane Lair, mon codirecteur de recherche, pour sa collaboration indispensable dans le projet ainsi que pour son analyse critique et ses idées qui ont permis d'améliorer l'étude. Un grand merci aussi à Dre. Carolyn Garaboin, ma codirectrice de recherche, pour ses judicieux conseils en pathologie clinique et pour ses encouragements.

Je remercie sincèrement Guy Beauchamp pour son aide précieuse avec les analyses statistiques et pour ses conseils durant la rédaction de l'article.

Merci aux employés de la Division ferme et animaleries (FANI) d'avoir pris soin des animaux durant tout le projet.

Un grand merci à Prof. Éric Troncy et Dre. Inga-Catalina Cruz Benedetti pour avoir accepté de faire partie de mon jury de maîtrise.

Je remercie aussi le Fonds en santé des animaux de compagnie, *l'Association of Reptile and Amphibian Veterinarians* (ARAV) et le Conseil de recherches en sciences naturelles et en génie du Canada (CRSNG) pour le financement de ce projet. Merci également à Rolf C. Hagen Inc. pour le don de terrariums et de matériels.

Finalement, j'aimerais remercier mes parents et ma sœur pour leur soutien constant et leurs encouragements tout au long de mon parcours universitaire.

## Introduction

Les comportements induits par la douleur peuvent être subtils et difficiles à interpréter chez les reptiles, ce qui peut rendre l'évaluation et le traitement de la douleur sous-optimaux (Fleming & Robertson, 2012). Il est toutefois essentiel d'administrer des médicaments analgésiques aux reptiles lors des conditions considérées douloureuses chez les autres espèces. En effet, les reptiles possèdent les structures neuroanatomiques nécessaires à la nociception ainsi que des mécanismes antinociceptifs endogènes pour la moduler. De plus, l'administration d'agents pharmacologiques, considérés analgésiques chez les mammifères, permet d'inhiber la réaction comportementale en réponse à un stimulus nociceptif chez les reptiles (Perry & Nevarez, 2018). Cependant, la connaissance des doses recommandées, des effets thérapeutiques et des effets indésirables potentiels des molécules antinociceptives demeure très limitée chez les reptiles, particulièrement en ce qui concerne les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).

Des études suggèrent que l'utilisation d'un AINS qui inhibe de manière non sélective la cyclooxygénase (COX) 1 et 2, comme le kétoprofène, pourrait être plus efficace pour contrôler l'inflammation chez les reptiles qu'un inhibiteur préférentiel de la COX-2, comme le méloxicam (Royal et al., 2012; Sadler et al., 2016). Cependant, seulement deux études pharmacocinétiques et une étude de toxicité du kétoprofène chez les reptiles ont été publiées (Harms et al., 2021; Thompson et al., 2018; Tuttle et al., 2006). Pour permettre l'utilisation d'un agent pharmacologique, il est essentiel de déterminer au préalable si son administration est sécuritaire et si des effets indésirables sont à surveiller. Le but global du projet était d'améliorer nos connaissances quant à la gestion de l'inflammation et de la nociception chez les reptiles en évaluant si l'administration d'un AINS inhibiteur non sélectif de la COX était sécuritaire. Ainsi, l'objectif de la présente étude était d'évaluer les effets adverses potentiels liés à l'administration répétée de kétoprofène chez le dragon barbu (*Pogona vitticeps*), une espèce

communément présentée en clinique vétérinaire pour des conditions médicales qui requièrent l'administration de médicaments analgésiques. L'hypothèse était que l'administration quotidienne intramusculaire (IM) de 2 mg/kg de kétoprofène durant 14 jours ne causerait pas d'effets adverses tandis que la dose de 20 mg/kg causerait des lésions gastro-intestinales, rénales et hépatiques. Pour évaluer la toxicité du kétoprofène, plusieurs tests ont été effectués : des analyses sanguines (paramètres biochimiques et temps de coagulation avec la méthode des tubes capillaires), des tests de sang occulte fécal et une évaluation histopathologique des organes. De plus, les signes cliniques étaient notés quotidiennement. Une dose de 2 mg/kg administrée chaque 24 heures a été choisie puisqu'elle a été utilisée dans les deux études pharmacocinétiques du kétoprofène chez les reptiles. Toutefois, la dose efficace de kétoprofène chez ces espèces demeure inconnue puisqu'aucune étude pharmacodynamique n'a été publiée. Ainsi, une dose élevée de kétoprofène (20 mg/kg) a été administrée afin d'évaluer les effets néfastes potentiels de ce médicament à une dose supérieure.

Le premier chapitre de ce mémoire de maîtrise est consacré à la revue de littérature. La première partie de celle-ci décrit les méthodes d'évaluation de la nociception et de l'antinociception chez les reptiles. Il est en effet primordial de pouvoir reconnaître et évaluer les signes de douleur afin de déterminer si l'administration de médicaments analgésiques est efficace aux doses actuellement recommandées dans la littérature. Puis, les mécanismes d'action, l'efficacité clinique et les effets adverses des AINS chez les mammifères, les oiseaux et les reptiles sont décrits. Une attention particulière est portée sur le kétoprofène et sur les techniques pour évaluer l'intégrité des principaux organes pouvant être affectés par ses effets toxiques. La dernière partie résume les autres médicaments antinociceptifs utilisés chez les reptiles en mettant l'accent sur leurs études pharmacodynamiques.

La méthodologie et les résultats du projet de maîtrise sont présentés sous forme d'un article scientifique dans le deuxième chapitre. Des résultats supplémentaires non présentés dans l'article sont ensuite décrits dans le troisième chapitre. Finalement, le quatrième et dernier chapitre est consacré à la discussion générale du mémoire, elle intègre les données de la littérature avec celles acquises grâce au présent projet.

# Chapitre 1 – Revue de littérature

## 1. La nociception chez les reptiles

### 1.1. Définitions et principes généraux

La compréhension et la gestion de la douleur chez les reptiles se sont grandement améliorées au cours des dernières années. Cependant, de nombreuses lacunes demeurent, telles que la variabilité de l'effet des analgésiques entre les espèces de reptiles ainsi que l'identification des analgésiques efficaces et des dosages appropriés. Ces questionnements sont principalement causés par la grande diversité des caractéristiques anatomiques, physiologiques et métaboliques des espèces de reptiles. En effet, la classe *Reptilia* est composée de quatre ordres (*Crocodylia*, *Squamata*, *Chelonia* et *Sphenodontia*) regroupant plus de 8000 espèces (Mosley, 2011).

Un sondage réalisé en 2004 auprès des membres de l'*Association of Reptile and Amphibian Veterinarians* a révélé que 98,4% des répondants croient que les reptiles ressentent la douleur, mais seulement 39,5% d'entre eux administrent des agents analgésiques lors de procédures chirurgicales chez plus de 50% de leurs patients (Read, 2004). Ces données illustrent l'important manque d'information dans la littérature concernant l'identification des signes de douleur et l'utilisation de traitements analgésiques chez ces espèces.

Bien qu'ils soient souvent utilisés de manière interchangeable dans la littérature, les termes douleur et nociception n'ont pas la même définition. La nociception fait référence aux structures neuroanatomiques et aux mécanismes physiologiques nécessaires afin de détecter les stimuli nuisibles et potentiellement dangereux et de transmettre l'information au cerveau (Mosley, 2011). Quant à elle, la douleur implique l'analyse et l'interprétation de l'information transmise au cerveau, plus précisément au

cortex cérébral, par le système nerveux central et périphérique (Perry & Nevarez, 2018). La définition de la douleur révisée en 2020 par l'*International Association for the Study of Pain* est qu'elle représente une expérience sensorielle et émotionnelle désagréable associée à, ou ressemblant à celle associée à, une lésion tissulaire réelle ou potentielle (Raja et al., 2020). Il n'y a pas encore de consensus si les reptiles ressentent réellement de la douleur ou s'ils produisent plutôt une réponse de fuite liée à un réflexe lors d'un stimulus désagréable (Perry & Nevarez, 2018). De plus, la douleur est modulée au niveau du néocortex et cette structure n'est pas présente chez toutes les espèces de reptiles. Ainsi, plusieurs auteurs suggèrent que le terme nociception serait plus adéquat chez certains reptiles, alors que le terme douleur pourrait être utilisé chez les chéloniens possédant un néocortex (Schilliger et al., 2021). D'autres auteurs suggèrent qu'une définition plus adéquate de la douleur chez les animaux serait qu'il s'agit d'une expérience sensorielle représentant la conscience d'un dommage tissulaire réel ou potentiel qui entraîne une réponse comportementale ou physiologique pour prévenir la récurrence et favoriser la guérison des dommages (Mosley, 2015). La douleur est à la fois un processus avantageux et nuisible. Sa fonction est avant tout d'assurer la survie de l'animal, car elle permet à l'organisme d'éviter des dommages tissulaires potentiels, mais la douleur peut également causer du stress, de la détresse et de la souffrance.

Plusieurs études ont démontré que les reptiles possèdent les structures neuroanatomiques nécessaires à la nociception ainsi que des mécanismes antinociceptifs endogènes pour la moduler. Par exemple, des projections vertébrales entre le tronc cérébral et les couches superficielles de la corne dorsale ont été identifiées chez le gecko tokay (*Gekko gecko*) et elles sont similaires à celles présentes chez les mammifères qui permettent une inhibition spinale de la nociception (ten Donkelaar & de Boer-van Huizen, 1987). De plus, des neurones nociceptifs mécaniques A delta ont été isolés dans la muqueuse orale et la peau du visage de crotales (Liang et al., 1995). Des récepteurs opioïdes ainsi que des neurotransmetteurs responsables de la modulation nociceptive chez les mammifères ont également été identifiés dans le

système nerveux central des reptiles (Kharbush et al., 2017; Lindberg & White, 1986; Ng et al., 1986; Ng et al., 1990; Reiner, 1987). Dans le cerveau de la tortue de Floride (*Trachemys scripta elegans*), les récepteurs opioïdes delta sont exprimés en plus grande quantité que les récepteurs opioïdes mu, ce qui pourrait expliquer pourquoi les tortues tolèrent mieux l'hypoxie que les mammifères (Xia & Haddad, 2001). En effet, l'activation des récepteurs opioïdes delta protège les neurones contre les dommages induits par l'hypoxie (Zhang et al., 2000). Il a aussi été démontré chez plusieurs reptiles que ceux-ci peuvent moduler la nociception lors de l'administration d'agents pharmacologiques considérés analgésiques chez d'autres espèces.

Les comportements induits par la douleur sont plus subtils et difficiles à interpréter chez les reptiles que les mammifères ou les oiseaux, ce qui peut rendre l'évaluation et le traitement de la douleur sous-optimaux (Fleming & Robertson, 2012). Malgré la controverse entourant la perception de la douleur chez les reptiles, il est reconnu qu'ils répondent aux stimuli nociceptifs avec une réponse comportementale de fuite ou d'évitement (Chatigny et al., 2017). Étant donné que les reptiles possèdent les structures neuroanatomiques et les mécanismes physiologiques nécessaires pour transmettre et ressentir des stimuli nociceptifs et réagir en conséquence, une analgésie adéquate devrait être administrée lors de procédures invasives ou potentiellement douloureuses (Kinney et al., 2011). En médecine vétérinaire, il est recommandé d'administrer des médicaments analgésiques aux vertébrés dans les conditions considérées douloureuses chez les êtres humains.

Selon les données actuelles, les principaux types de médicaments analgésiques recommandés chez les reptiles sont les opioïdes, les AINS, les agonistes  $\alpha 2$ -adrénergiques et les anesthésiques locaux (Bisetto et al., 2018).

## **1.2. Évaluation de la nociception et de l'antinociception**

Pour évaluer l'efficacité d'un médicament chez une espèce, il est recommandé d'effectuer une étude pharmacocinétique et une étude pharmacodynamique. Plusieurs études pharmacocinétiques effectuées chez les reptiles ont évalué la concentration plasmatique d'un médicament et la comparent avec la concentration considérée efficace pour produire un effet analgésique chez les mammifères. Bien que la concentration plasmatique d'un médicament puisse fournir des indications sur la fréquence d'administration, il n'y a pas nécessairement de corrélation avec son effet analgésique (Giorgi, Salvadori, et al., 2015). De plus, il y a des différences pharmacocinétiques et pharmacodynamiques significatives entre les espèces, ce qui rend difficile l'extrapolation des effets d'un médicament (Mosley, 2015). En effet, parmi certaines études évaluant l'effet d'un opioïde chez les reptiles à l'aide du même modèle d'évaluation de la douleur, des différences marquées ont été observées sur les effets antinociceptifs et les doses considérées efficaces.

Plusieurs modèles d'évaluation de la nociception et de l'antinociception ont été utilisés en recherche chez différentes espèces de reptiles. Ils permettent de déterminer si un médicament permet un effet antinociceptif efficace aux doses testées. Le principe de base consiste à induire un stimulus nociceptif thermique, chimique, mécanique ou électrique, puis comparer la réponse de l'animal avec ou sans l'administration d'un médicament analgésique (Mosley, 2011). Il est difficile d'évaluer si un agent pharmacologique produit un effet antinociceptif lorsqu'il altère aussi l'état mental, comme c'est le cas pour certains opioïdes. À l'opposé, les AINS réduisent la douleur et l'inflammation sans modifier l'état mental, ce qui facilite l'évaluation de leur effet (Wellehan et al., 2006).

L'application d'un stimulus nociceptif thermique à un membre est un modèle très utilisé chez les mammifères pour évaluer la nociception et l'effet analgésique, et il corrèle avec l'efficacité clinique de plusieurs médicaments analgésiques (Mosley, 2011). Cette méthode a l'avantage d'être facile, rapide, quantifiable et objective. Elle est aussi non

invasive, ne produit pas de dommages tissulaires et permet à l'animal de retirer son membre rapidement du stimulus (Bunke et al., 2018; Giorgi, Salvadori, et al., 2015). Cette méthode permet d'éviter de manipuler les animaux et de provoquer une diminution de la réponse nociceptive induite par le stress. De plus, ce stimulus thermique provoque une réponse d'évitement semblable chez plusieurs espèces de reptiles et l'effet est reproductible avec ou sans l'administration d'un opioïde (Couture et al., 2017; Mosley, 2011). Par exemple, cette méthode a été utilisée pour évaluer l'effet antinociceptif de plusieurs opioïdes chez la tortue de Floride (Sladky et al., 2009; Sladky et al., 2007) et le dragon barbu (Couture et al., 2017; Sladky et al., 2008). Les études chez les reptiles induisent principalement le stimulus thermique à l'aide d'une plaque chauffante placée sous l'animal (ex. : *Thermal Plantar Test Instrument*, Ugo Basile Company, Camerio, VA, Italie). Ce modèle nociceptif a aussi été utilisé en attachant une sonde (ex. : *Thermal Nociceptive Threshold System*, Topcat Metrology Ltd, Ely, CB, Angleterre) contenant un élément chauffant latéralement à la queue d'iguanes verts (*Iguana iguana*) ou à l'aspect médial de la cuisse de dragons barbues (Couture et al., 2017; Fleming & Robertson, 2012). La validité de l'application d'un stimulus thermique a toutefois été remise en question par certains auteurs. En effet, les reptiles sont des ectothermes et il arrive fréquemment qu'ils développent des brûlures cutanées provenant de leur source de chaleur dans leur terrarium (Mosley, 2011). Certaines espèces de reptiles désertiques, tel que le dragon barbu, sont habituées aux températures extrêmes et leur peau possède des adaptations reliées à leur habitat. Ces espèces peuvent donc présenter un seuil thermique plus élevé (Couture et al., 2017; Sladky et al., 2008). Bien qu'un médicament puisse avoir un effet antinociceptif lors d'un stimulus thermique aigu, son effet peut être différent lors d'un stimulus nociceptif chronique ou chirurgical aigu (Giorgi, Salvadori, et al., 2015). En effet, l'association entre l'antinociception et l'analgésie clinique demeure inconnue chez les reptiles. La douleur clinique est complexe et il faudrait idéalement évaluer les effets des molécules analgésiques lors de plusieurs types de stimuli nociceptifs (Couture et al., 2017).

Les stimuli nociceptifs chimiques sont aussi un modèle connu pour évaluer la nociception et l'efficacité analgésique des médicaments (James et al., 2017). La réponse à l'application d'un irritant chimique, tel que la capsaïcine ou le formol, a été évaluée chez des chéloniens (Dahlin et al., 2012), des serpents (Williams et al., 2016) et des crocodiliens (Kanui et al., 1990). La capsaïcine est l'ingrédient actif des piments forts et elle crée une sensation de brûlure en induisant la dépolarisation des fibres C nociceptives via la stimulation de récepteurs vanilloïdes spécifiques à la chaleur. Certaines études ont quant à elles utilisé une technique qui consiste à suspendre une tortue par la carapace et à injecter un irritant chimique entre les doigts d'un membre pelvien, ce qui provoque la rétraction d'un membre dans la carapace, soit un comportement indiquant la présence de douleur (Dahlin et al., 2012; Makau et al., 2014, 2017; Wambugu et al., 2010). La durée de la rétraction du membre à l'intérieur de la carapace était ensuite comparée sans ou avec l'administration concomitante d'un médicament antinociceptif. L'utilisation de stimuli chimiques comporte cependant un désavantage, car elle peut causer une inflammation sévère, voire une stimulation neurotoxique, et des dommages tissulaires (Leal et al., 2017).

L'application d'un stimulus nociceptif mécanique a aussi été utilisée chez les reptiles comme modèle d'évaluation de la nociception. En effet, des stimuli chirurgicaux ont été induits en effectuant une gonadectomie, en cathétérisant l'artère vertébrale ainsi qu'en pratiquant une incision cutanée et musculaire (James et al., 2017; Kinney et al., 2011; Olesen et al., 2008). De plus, l'application d'une pression à l'aide de monofilaments de Semmes-Weinstein (ou cheveux de von Frey) est une méthode utile et quantitative pour induire un stimulus mécanique tactile de retrait et évaluer l'efficacité anesthésique de l'alfaxalone chez la couleuvre rayée (*Thamnophis sirtalis*) (Strahl-Heldreth et al., 2019). Ces monofilaments n'ont toutefois pas encore été utilisés chez les reptiles pour évaluer l'efficacité analgésique (antinociceptive, et plus particulièrement anti-allodynique tactile) d'une molécule.

Un modèle d'électrostimulation de la queue a aussi été utilisé chez le dragon barbu et l'iguane vert pour étudier l'efficacité antinociceptive de plusieurs opioïdes et AINS (Greenacre et al., 2008; Greenacre et al., 2006). L'utilisation de ce modèle est cependant controversée, car ce type de stimulus n'est ni naturel, ni présent dans l'environnement normal des reptiles sauvages ou en captivité. De plus, une stimulation électrique élevée entraîne une stimulation de fibres nerveuses qui ne sont pas seulement nociceptives (Le Bars et al., 2001). Par ailleurs, ces études ont donné des résultats inconstants et ont tiré des conclusions divergentes de plusieurs autres études concernant l'efficacité antinociceptive de certaines molécules. L'électrostimulation de la queue a toutefois permis d'induire un stimulus très élevé nécessaire pour mesurer la concentration alvéolaire minimale de l'isoflurane chez des iguanes verts sous anesthésie générale (Mosley et al., 2003).

En résumé, de nombreux modèles expérimentaux impliquant l'utilisation d'un stimulus thermique, chimique, mécanique ou électrique ont été utilisés afin d'évaluer subjectivement ou objectivement la nociception et l'efficacité de différents médicaments antinociceptifs chez les reptiles. Toutefois, ils ne reproduisent pas toujours les types de stimuli nociceptifs rencontrés en clinique. De plus, la majorité de ces modèles expérimentaux ont été conçus pour évaluer les effets analgésiques des opioïdes et ne sont pas nécessairement utiles pour évaluer les effets des AINS. Ces méthodes comportent donc des lacunes et l'interprétation des résultats doit être effectuée avec discernement.

L'évaluation de la nociception est difficile chez les reptiles présentés en clinique vétérinaire. Elle se base principalement sur le comportement du patient (attitude, appétit, posture et vocalisation), sur des paramètres physiologiques (fréquence cardiaque et respiratoire) ainsi que sur l'évaluation du degré de douleur potentielle de la condition médicale de l'animal (Read, 2004).

Les paramètres physiologiques, tels que la fréquence cardiaque, sont généralement des indicateurs peu spécifiques de la douleur. En effet, ils peuvent être influencés par le niveau d'activité, la température environnementale et l'alimentation chez les ectothermes (Mosley, 2011). Il est donc recommandé de combiner l'analyse des valeurs physiologiques avec les signes comportementaux (James et al., 2017). Une étude a montré que la fréquence cardiaque semble être un indicateur utile afin d'évaluer la nociception lors d'un stimulus nociceptif aigu chez les serpents et pourrait donc permettre l'évaluation de l'effet antinociceptif d'un médicament. En effet, l'injection sous-cutanée (SC) de capsaïcine ou le cathétérisme de l'artère vertébrale ont significativement augmenté la fréquence cardiaque chez des pythons royaux (*Python regius*) (Olesen et al., 2008; Williams et al., 2016). L'administration préopératoire de morphine, de butorphanol ou de méloxicam n'a cependant pas permis de modifier ce paramètre physiologique dans ces deux études.

L'analyse du comportement permet également d'évaluer la douleur, la nociception ainsi que l'effet des médicaments analgésiques. La recherche et l'expérience clinique ont permis de démontrer que les reptiles manifestent de nombreux comportements qui évoquent des signes de douleur chez les mammifères (voir Tableau 1, p.25). Par exemple, à la suite d'une gonadectomie, les tortues de Floride du groupe témoin ont démontré une augmentation de leur locomotion comparativement au groupe n'ayant pas été opéré ou ayant reçu un analgésique suivant la procédure (Kinney et al., 2011). Cela suggère que la douleur viscérale pourrait causer une augmentation de l'activité locomotrice chez ces tortues. Toutefois, de nombreux facteurs peuvent influencer le comportement normal des reptiles, tels que la température, l'exposition à des rayons ultraviolets, l'humidité, la reproduction, l'alimentation, la présence de congénères ou d'humains, les phéromones et la douleur (Fleming & Robertson, 2012; Schilliger et al., 2021). Pour plusieurs reptiles, les êtres humains représentent un prédateur potentiel, ce qui peut affecter les résultats. En effet, une étude chez l'iguane vert a montré que la différence entre la température du seuil thermique, induit par un élément chauffant

attaché à la queue, et la température basale de la peau était statistiquement plus élevée lorsqu'un observateur était visible que lorsqu'un observateur n'était pas visible, suggérant une analgésie induite par le stress (Fleming & Robertson, 2012). En effet, il a été démontré chez des rongeurs et des oiseaux que des agents stressants provoquent une diminution de la réponse lors d'une stimulation nociceptive, en partie à cause de la libération d'opioïdes endogènes. Les iguanes avaient aussi tendance à devenir immobiles à la vue d'un observateur tandis qu'ils devenaient actifs et exploraient leur terrarium lorsque l'observateur n'était plus visible. Ces résultats suggèrent donc que pour ce type d'étude, une barrière visuelle doit être installée et l'évaluation du comportement des animaux doit être effectuée à l'aide d'une caméra.

Une diminution de la prise alimentaire peut également être un signe de douleur, bien qu'elle soit un indicateur peu sensible chez les mammifères. Une étude a quant à elle montré que la prise alimentaire peut être un bon modèle d'évaluation de la douleur chez les serpents. Dans cette étude, le délai de la reprise du comportement d'alimentation spontanée des pythons royaux ayant reçu une injection de capsaïcine ou une incision chirurgicale était augmenté comparativement au groupe contrôle ayant seulement subi une anesthésie générale (James et al., 2017).

Dans un contexte clinique, déterminer le comportement normal d'un individu avant une procédure pouvant être douloureuse peut faciliter l'évaluation du confort du patient en période postopératoire. Il est également essentiel de connaître les différents comportements spécifiques d'espèce afin d'interpréter convenablement les signes anormaux pouvant indiquer de la douleur. Toutefois, les comportements évoquant de la douleur peuvent être subtils chez les reptiles, ce qui peut rendre l'évaluation et le traitement de la douleur sous-optimaux (Fleming & Robertson, 2012). Bien qu'il soit complexe de reconnaître la douleur ou la nociception, certains signes cliniques peuvent être de bons indicateurs (voir Tableau 1, p.25). Il est cependant important de noter qu'une modification du comportement par un médicament ne signifie pas

nécessairement la présence d'une analgésie, car les médicaments peuvent modifier la réponse comportementale sans inhiber la nociception.

**Tableau 1.** Résumé des signes comportementaux pouvant être reliés à de la nociception ou de la douleur chez les lézards, les serpents et les tortues (Duncan, 2012; Schilliger et al., 2021).

<b>Lézards</b>	<b>Serpents</b>	<b>Tortues</b>
Diminution de l'appétit	Diminution de l'appétit; augmentation du délai pour attraper une proie	Diminution de l'appétit
Paupières fermées	-	Paupières fermées
Agressivité augmentée lors des manipulations	Agressivité augmentée lors des manipulations	Agressivité augmentée lors des manipulations
-	Agitation constante dans son terrarium et durant les manipulations	-
Boiterie	-	Boiterie
Posture anormale	Posture anormale	Posture anormale
Tête élevée et en extension	-	Étirement de la tête et du cou à l'intérieur et à l'extérieur de la carapace
Dos cambré; évitement du décubitus ventral; tête appuyée contre un mur; grattage au site de douleur; abdomen tendu durant la palpation	Corps moins enroulé au site de douleur	-
Changement de couleur de la peau	-	-
Mouvements respiratoires anormaux	Mouvements respiratoires anormaux	Mouvements respiratoires anormaux

## 2. Anti-inflammatoires non stéroïdiens

### 2.1. Mécanismes d'action

Les AINS ont des actions analgésiques, anti-inflammatoires et antipyrétiques. Ils peuvent être utilisés pour traiter la douleur aiguë d'origine traumatique ou chirurgicale, ainsi que la douleur chronique comme lors d'arthrose (Budsberg, 2015). L'un des avantages des AINS, comparativement aux opioïdes, est leur longue durée d'action. En effet, la majorité des AINS permettent une analgésie durant au moins 24 heures chez les carnivores domestiques (Grant, 2006).

Normalement, lors d'un dommage tissulaire, les phospholipides des membranes cellulaires sont transformés par l'enzyme phospholipase A<sub>2</sub> en acide arachidonique. Ensuite, l'acide arachidonique est transformé, sous l'action de l'enzyme cyclooxygénase, en différents prostanoides, notamment des prostaglandines (PGD<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub>, et PGF<sub>2α</sub>), la prostacycline (PGI<sub>2</sub>) et le thromboxane A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>). Les prostanoides ont plusieurs effets physiologiques essentiels au bon fonctionnement de l'organisme, mais ils contribuent aussi à l'inflammation, à la douleur et à la fièvre (Grant, 2006).

La plupart des AINS fonctionnent en inhibant l'enzyme COX en se liant sur son site actif, ce qui l'empêche de se lier au substrat de l'acide arachidonique. Ainsi, l'inhibition de la COX cause l'inhibition de la synthèse des prostanoides (Talcott & Gwaltney-Brant, 2013). Certains AINS, tels que le grapiprant, agissent cependant en antagonisant spécifiquement les récepteurs de la PGE<sub>2</sub> et n'inhibent donc pas l'enzyme COX (Rodriguez et al., 2021).

L'enzyme COX est présente dans toutes les cellules, à l'exception des globules rouges matures. Cependant, son activité et sa distribution varient selon les tissus (Hanson & Maddison, 2008). Il existe deux principales isoformes de la COX, soit la COX-1 et la COX-2. Une troisième isoforme existe, soit la COX-3, mais son effet n'est pas encore bien

compris. La COX-1 est considérée comme étant l'isoforme constitutive, c'est-à-dire qu'elle est responsable de la production basale de prostaglandines qui permettent le maintien des activités physiologiques normales. La COX-1 est présente dans de nombreux tissus, dont l'estomac, les reins, les plaquettes (ou thrombocytes chez les reptiles), l'endothélium et le système reproducteur (Budsberg, 2015; McLean & Khan, 2018). Elle permet la protection de la muqueuse gastrique, la perfusion sanguine rénale et l'homéostasie vasculaire (Hanson & Maddison, 2008). La COX-1 est aussi présente aux sites d'inflammation, mais surtout à cause de l'action basale et non induite. La COX-2 est quant à elle considérée comme étant l'isoforme inductible lors de processus pathologiques qui provoquent l'inflammation, la douleur et la fièvre. Cependant, elle est aussi exprimée de façon constitutive dans différents tissus, comme le cerveau, les reins, le système reproducteur et les yeux (Budsberg, 2015). Elle permet le maintien de la perfusion sanguine rénale et elle agit dans différents processus reproducteurs et de signalement cellulaire (Hanson & Maddison, 2008). Différentes cellules expriment la COX-2, dont les cellules endothéliales, les cellules musculaires lisses, les chondrocytes, les fibroblastes, les monocytes, les macrophages et les cellules synoviales (Budsberg, 2015; McLean & Khan, 2018).

Les prostaglandines contribuent à la réponse inflammatoire en causant une vasodilatation, ainsi qu'une hyperalgésie en sensibilisant les nocicepteurs à l'action de certains médiateurs (par exemple l'histamine et la bradykinine) (Grant, 2006). Elles contribuent donc à l'érythème, à l'enflure et à la douleur lors d'inflammation (McLean & Khan, 2018). Les prostaglandines agissent au niveau du centre de la thermorégulation de l'hypothalamus et causent de la fièvre. Toutefois, les AINS inhibent les actions indésirables des prostanoides autant au niveau des tissus périphériques que du système nerveux central. Ainsi, au niveau central, les AINS inhibent les prostaglandines, ce qui permet de bloquer la transmission des signaux douloureux dans la moelle épinière et de réduire la fièvre (Grant, 2006).

Cependant, les prostanoïdes ont plusieurs effets bénéfiques tels que la protection de la muqueuse gastro-intestinale, les processus de la reproduction, l'agrégation plaquettaire ainsi que le maintien de la perfusion sanguine rénale. Leur inhibition peut ainsi mener à certains effets adverses (Grant, 2006), qui seront discutés prochainement.

Les AINS inhibiteurs de la COX-2 peuvent aussi aider à prévenir et à traiter certains cancers chez les humains et les animaux. En effet, la COX-2 est induite en grande quantité par certaines tumeurs et elle a un rôle important dans la croissance et la progression des cancers. Les AINS inhibiteurs de la COX-2 agissent en inhibant l'angiogenèse et la prolifération cellulaire, en augmentant l'apoptose et en activant la réponse immunitaire en diminuant la production de prostaglandines (Grant, 2006; Tsuchida et al., 2005). Par exemple, le piroxicam peut aider à traiter ou augmenter l'espérance de vie des chiens atteints d'un carcinome à cellules transitionnelles de la vessie ou d'un carcinome prostatique (Knapp et al., 1994; Sorenmo et al., 2004). Lors de polypes rectaux ou de cystite polypoïde, le piroxicam peut limiter leur transformation maligne chez le chien (Grant, 2006). De plus, chez le hamster doré, une étude a montré que le méloxicam réduit la formation du cancer de la vésicule biliaire en supprimant la croissance cellulaire (Tsuchida et al., 2005).

La demi-vie sanguine des AINS est peu corrélée avec la durée de l'effet du médicament. En effet, les AINS se concentrent aux sites d'inflammation, donc leur concentration est élevée plus longtemps dans les tissus endommagés que dans le sang (Grant, 2006). De plus, les doses efficaces plasmatiques varient selon les espèces, il n'est par conséquent pas toujours possible d'extrapoler les données des carnivores domestiques. Ainsi, les études pharmacodynamiques donnent généralement plus d'information que les études pharmacocinétiques concernant les doses efficaces à administrer.

## **2.2. Sélectivité**

Une manière de classer les AINS est de calculer leur sélectivité, c'est-à-dire la concentration nécessaire pour inhiber la COX-1 comparativement à la COX-2. Selon cette sélectivité, on qualifie les AINS d'inhibiteurs non sélectifs, c'est-à-dire qu'ils inhibent presque autant la COX-1 et la COX-2, de sélectifs pour la COX-2 ou de préférentiels pour la COX-2. Puisque la COX-2 est considérée comme étant l'isoforme induite lors d'inflammation, il est généralement recommandé d'utiliser des AINS qui inhibent sélectivement ou préférentiellement la COX-2. Chez les mammifères, on lit fréquemment qu'ils produisent moins d'effets adverses que les AINS inhibiteurs non sélectifs de la COX puisqu'ils permettent de maintenir l'activité de la COX-1 (Budsberg, 2015). Cette information doit toutefois être utilisée à titre indicatif seulement, car il n'y a pas encore de preuve en médecine vétérinaire que les AINS qui inhibent préférentiellement la COX-2 produisent moins d'effets adverses gastro-intestinaux et rénaux que les AINS non sélectifs de la COX. D'ailleurs, les AINS qui agissent principalement sur la COX-2 produisent eux aussi des effets adverses. L'inhibition complète de la COX-2 est ainsi à éviter, car elle empêche plusieurs fonctions physiologiques normales, dont la guérison des ulcères gastriques (Hanson & Maddison, 2008). La sélectivité des AINS ne semble donc pas être liée directement et uniquement à l'efficacité clinique ou à la toxicité. En effet, il faut aussi prendre en compte la biodisponibilité, le métabolisme et l'excrétion des AINS (Monteiro-Steagall et al., 2013).

Les études qui mesurent la sélectivité de la COX sont effectuées *in vitro* et non *in vivo*. Aussi, la sélectivité varie selon l'espèce, le type de cellule utilisé en culture cellulaire et la concentration en AINS utilisée (Budsberg, 2015; Grant, 2006). Chaque espèce démontre une variation dans l'activité de la COX-1 et de la COX-2 dans les tissus ainsi que de la sélectivité des AINS vis-à-vis chaque isoforme. Il faut donc éviter d'extrapoler la sélectivité des AINS d'une espèce à l'autre, et donc l'effet clinique et les effets adverses possibles des AINS (Grant, 2006). Finalement, il est important de noter qu'à des concentrations élevées, tous les AINS, qu'ils soient davantage sélectifs pour la COX-1 ou la COX-2, vont inhiber les deux isoformes (Talcott & Gwaltney-Brant, 2013).

### **2.3. Kétoprofène**

Le kétoprofène est un AINS qui fait partie de la classe des acides propioniques. Chez le chien, c'est un inhibiteur non sélectif de la COX, c'est-à-dire qu'il agit sur la COX-1 et la COX-2. Le kétoprofène est utilisé pour contrôler la douleur aiguë légère à modérée ainsi que celle liée à l'arthrose. Certaines études ont montré que l'effet analgésique du kétoprofène, suite à une chirurgie orthopédique ou de tissus mous, est supérieur à certains opioïdes tels que le butorphanol et l'oxymorphone chez le chien ainsi que la buprénorphine et la péthidine chez le chat (Pibarot et al., 1997; Slingsby & Waterman-Pearson, 1998). De plus, le kétoprofène est un antipyrétique efficace chez le chat (Glew et al., 1996). Son utilisation en formulation orale ou parentérale est approuvée au Canada et en Europe chez les chiens et les chats (Budsberg, 2015).

## **3. Effets adverses des anti-inflammatoires non stéroïdiens**

Les effets adverses des AINS seront d'abord décrits chez les chiens et les chats, puis chez les oiseaux, et finalement chez les reptiles.

### **3.1. Effets adverses des anti-inflammatoires non stéroïdiens chez les mammifères**

Dans la majorité des cas, les AINS prescrits sont des médicaments sécuritaires et seulement un petit pourcentage d'animaux présente des effets secondaires importants. Par contre, la très grande utilisation des AINS fait en sorte que ce faible pourcentage devient un nombre élevé de cas (Budsberg, 2015). L'incidence des effets adverses varie entre les différents AINS et les différents articles publiés (Monteiro-Steagall et al., 2013).

Dans les différentes études sur l'administration d'AINS, des effets adverses sont plus souvent notés lors des essais cliniques que lors des études de recherche. Cette différence peut s'expliquer par le fait que de jeunes chiens sans problèmes concomitants sont plus souvent utilisés lors des études de recherche. Par contre, les

essais cliniques représentent un meilleur reflet de la population en incluant des chiens plus âgés avec d'autres problèmes de santé (Monteiro-Steagall et al., 2013).

Les AINS ont plusieurs mécanismes d'action différents. De plus, l'efficacité clinique et la toxicité des AINS varient entre les espèces et les individus, donc un suivi individuel est toujours recommandé lorsque ces médicaments sont administrés (Budsberg, 2015). En effet, le métabolisme et la demi-vie des AINS varient selon la voie métabolique et la circulation entéro-hépatique. Par exemple, une dose thérapeutique d'ibuprofène pour l'humain peut être très toxique chez le chien, tandis qu'une dose thérapeutique d'aspirine pour le chien peut être toxique chez le chat (Grant, 2006).

### 3.1.1. Effets gastro-intestinaux

Chez le chien et le chat, les principaux effets adverses liés à l'utilisation d'AINS sont les ulcères et les saignements gastro-intestinaux (Budsberg, 2015; Talcott & Gwaltney-Brant, 2013). Ces animaux semblent plus susceptibles aux effets adverses gastro-intestinaux des AINS que les humains (Hanson & Maddison, 2008). Chez le chien, contrairement aux humains, plusieurs AINS (ex. : ibuprofène, naproxène, carprofène, piroxicam, flunixin et acide tolfénamique) subissent un recyclage entéro-hépatique. Ainsi, l'excrétion biliaire des AINS cause une réabsorption et une répétition de l'exposition aux médicaments. Ce processus a un impact important dans le développement de lésions dans le petit intestin causées par les AINS (Talcott & Gwaltney-Brant, 2013). Chez le chat, une diminution de la capacité à effectuer de la glucurono-conjugaison au niveau hépatique et à métaboliser les AINS pourrait expliquer leur plus grande susceptibilité aux effets gastro-intestinaux comparativement aux humains (Hanson & Maddison, 2008).

Les ulcères gastro-intestinaux sont causés par l'inhibition des prostaglandines qui inhibent normalement la sécrétion de gastrine et de l'acide hydrochlorique. Les AINS inhibent les prostaglandines qui stimulent normalement la sécrétion de mucus et de

bicarbonate permettant de protéger l'estomac contre l'acidité gastrique (Talcott & Gwaltney-Brant, 2013). L'incidence réelle de la toxicité gastro-intestinale chez les chiens et les chats n'est pas connue. Le potentiel ulcérogène des AINS est augmenté lors de l'utilisation concomitante de corticostéroïdes, de déshydratation, d'un choc hypovolémique ou d'une perturbation de la perfusion intestinale normale (Hanson & Maddison, 2008). Pour limiter ces effets, il est recommandé d'administrer un protecteur de muqueuses lorsque des AINS sont administrés pour de longues périodes ou chez des animaux plus sensibles aux ulcères gastro-intestinaux (Budsberg, 2015).

### 3.1.2. Effets rénaux

Les AINS peuvent causer une toxicité rénale secondaire aux diminutions de la perfusion sanguine rénale et du débit de filtration glomérulaire (DFG). Cette toxicité est surtout une conséquence de l'inhibition de la production de prostaglandines (Hanson & Maddison, 2008). Normalement, en cas d'hypovolémie, la concentration en prostaglandines augmente pour causer une vasodilatation des artérioles afférentes et maintenir la perfusion sanguine rénale. L'inhibition des COX-1 et/ou des COX-2 peut provoquer une vasoconstriction des artérioles afférentes et efférentes, ce qui peut mener à l'ischémie des reins et finalement, à l'insuffisance rénale. Les lésions associées à cette toxicité rénale sont notamment une nécrose papillaire et une néphrite interstitielle (Budsberg, 2015; McLean & Khan, 2018; Talcott & Gwaltney-Brant, 2013).

Chez les chiens et les chats, des lésions rénales sont surtout observées lors de surdose d'AINS ou lors d'administration chronique à des doses thérapeutiques. Il y a davantage de risques de toxicité rénale lorsqu'un animal est hypovolémique (ex. : déshydratation, anesthésie, hémorragie ou insuffisance cardiaque), est hypernatrémique (ex. : insuffisance cardiaque congestive ou cirrhose hépatique) ou présente déjà une insuffisance rénale (Hanson & Maddison, 2008; Talcott & Gwaltney-Brant, 2013).

### 3.1.3. Effets hépatiques

La toxicité hépatique causée par l'administration d'AINS est rare chez les chiens et les chats. Quelques cas idiosyncrasiques ont été rapportés lors d'administration de carprofène chez des chiens (Hanson & Maddison, 2008). Malgré tout, il est recommandé de surveiller la fonction hépatique lorsque des AINS sont administrés (Talcott & Gwaltney-Brant, 2013).

### 3.1.4. Effets sur la coagulation sanguine

Les AINS non sélectifs inhibent l'enzyme COX-1, ce qui diminue la synthèse de TXA<sub>2</sub> par les plaquettes. Chez le chien, le TXA<sub>2</sub> est un promoteur important de l'agrégation plaquettaire qui est produit par les plaquettes activées pour recruter davantage de plaquettes lorsqu'il y a un bris dans la paroi d'un vaisseau sanguin. Le TXA<sub>2</sub> cause également une vasoconstriction des vaisseaux. Ainsi, l'inhibition de TXA<sub>2</sub> peut prolonger l'hémostase primaire et donc, le temps de saignement. Les AINS sélectifs pour la COX-2 n'ont généralement pas cet effet et n'affectent pas l'hémostase primaire (Budsberg, 2015). Toutefois, aux doses thérapeutiques administrées, il est rare que les AINS affectent l'hémostase (Hanson & Maddison, 2008). En effet, l'action de TXA<sub>2</sub> est contrebalancée par celle de la PGI<sub>2</sub> au niveau des vaisseaux sanguins. La PGI<sub>2</sub> est produite par les cellules endothéliales vasculaires, elle est un inhibiteur de l'agrégation plaquettaire et provoque une vasodilatation. L'administration d'AINS non sélectifs provoque une diminution de la production de TXA<sub>2</sub> et de PGI<sub>2</sub>, préservant ainsi l'équilibre vasculaire. Parfois, lors de l'administration d'un inhibiteur spécifique de la COX-2, seule la PGI<sub>2</sub> diminue, car elle est majoritairement produite par la COX-2. En revanche, le TXA<sub>2</sub> ne diminue pas puisqu'il est produit seulement par la COX-1. Ce déséquilibre peut provoquer une hypercoagulabilité et augmenter le risque de formation de caillots sanguins (Budsberg, 2015). De plus, des saignements peuvent se produire avec des AINS qui inhibent de manière irréversible la COX-1, comme l'aspirine et la phénylbutazone. Cet effet persiste durant toute la vie de la plaquette, mais celle-ci

ne peut pas synthétiser de nouveaux thromboxanes puisqu'elle n'a pas de noyau chez les mammifères (Hanson & Maddison, 2008). En revanche, les thrombocytes des reptiles possèdent des noyaux, ce qui pourrait avoir un impact sur l'effet des AINS.

Finalement, une attention particulière doit être portée lorsque des AINS sont administrés à des animaux souffrant d'une coagulopathie (Talcott & Gwaltney-Brant, 2013).

### 3.1.5. Effets sur la guérison osseuse

Les prostaglandines jouent un rôle dans l'homéostasie osseuse et la guérison osseuse. Bien que cet effet adverse soit rare, les AINS peuvent ralentir la guérison osseuse (Budsberg, 2015).

### 3.1.6. Effets spécifiques du kétoprofène

Mathews et al. (2001) ont observé que le temps de saignement buccal ne changeait pas significativement après l'administration d'une dose unique (2 mg/kg) de kétoprofène à 12 chiens. Dans cette étude, l'administration d'une dose unique de kétoprofène (2 mg/kg) à des chiens durant une chirurgie n'a pas modifié les paramètres hématologiques et biochimiques, ni causé de sang occulte dans les selles les jours suivants. De plus, aucune lésion rénale ou hépatique n'était présente lors de l'évaluation *post-mortem*. Cependant, un individu avait une lésion focale dans l'estomac qui aurait pu se développer avant ou après la période postopératoire (Mathews et al., 2001). Dans une autre étude, 11 chiens ont reçu une dose intramusculaire unique de kétoprofène (2 mg/kg) avant une chirurgie (Lemke et al., 2002). L'agrégation plaquettaire avait statistiquement diminué immédiatement après la chirurgie et 24 heures après la chirurgie, comparativement au groupe témoin et aux valeurs préopératoires. Toutefois, le temps de saignement buccal était semblable entre les groupes.

Ensuite, chez des chiens, une dose de kétoprofène (2 mg/kg sous-cutanée) administrée avant une chirurgie orthopédique a significativement augmenté le temps de saignement de la muqueuse buccale au début et à la fin de la procédure, comparativement au groupe témoin et au groupe traité avec du carprofène (Grisneaux et al., 1999). Cependant, les saignements intraopératoires estimés par le chirurgien n'étaient pas différents entre les groupes. En effet, les auteurs affirment qu'il n'y a pas nécessairement d'association entre l'augmentation du temps de saignement buccal et les pertes sanguines lors d'une chirurgie (Grisneaux et al., 1999).

Dans une autre étude, six chiens ont reçu une dose quotidienne par voie orale (PO) (2 mg/kg) de kétoprofène durant 10 jours (Borges et al., 2013). Il n'y a pas eu de changements au niveau des paramètres biochimiques et urinaires analysés. Toutefois, la clairance de la créatinine était plus basse que les valeurs normales au dixième jour, mais la différence n'était pas significative entre les groupes.

Forsyth et al. (1998) ont quant à eux administré du kétoprofène (1 mg/kg une fois par jour) à six chiens durant 28 jours et une gastroscopie a été effectuée aux jours 0, 7 et 28. Au jour 7, quatre chiens présentaient des hémorragies et de l'érosion gastro-intestinale, et ils étaient cinq à en présenter au jour 28. Cependant, des chiens du groupe témoin présentaient aussi des lésions gastro-intestinales, ce qui questionnait l'étiologie de ces lésions. Les paramètres hématologiques et biochimiques n'avaient pas changé significativement entre les groupes et par rapport aux valeurs basales (Forsyth et al., 1998).

Luna et al. (2007) ont évalué les effets de l'administration répétée de plusieurs AINS durant 90 jours. Six chiens ont reçu par voie orale du kétoprofène durant quatre jours à une dose de 2 mg/kg, puis à une dose de 1 mg/kg jusqu'à un total de 90 jours. Une évaluation endoscopique a révélé que trois chiens sur six avaient développé des lésions gastriques. Il y avait présence de sang occulte dans les selles chez certains chiens à

différents moments dans l'étude. Au jour 7, le temps de saignement, effectué à la surface interne de l'oreille, était statistiquement plus long pour le groupe traité avec du kétoprofène comparativement au groupe contrôle, mais pas aux jours 30, 60 et 90. Le temps de coagulation était quant à lui augmenté significativement au jour 60, mais pas aux jours 30 et 90. Cette valeur demeurait néanmoins dans les valeurs de référence (Luna et al., 2007).

Finalement, une étude chez des chiens a évalué les effets adverses potentiels suivant l'administration orale quotidienne de kétoprofène durant 28 jours, soit à une dose faible (0,25 mg/kg) ou à une dose élevée (1 mg/kg) (Monteiro et al., 2019). Il y avait une augmentation significative du score de lésions gastro-intestinales, visualisées par endoscopie, et une diminution significative du DFG chez les chiens ayant reçu la dose élevée comparativement à ceux ayant reçu la dose faible. De plus, le temps d'agrégation plaquettaire, évalué à l'aide d'un analyseur de fonction plaquettaire, était statistiquement augmenté après le traitement comparativement aux valeurs basales dans tous les groupes, mais il n'était pas différent entre les groupes. Le temps de saignement de la muqueuse buccale est toutefois demeuré dans les valeurs de références, questionnant ainsi la signification clinique de cette trouvaille. Il y avait aussi une diminution significative du comptage de globules rouges et de la concentration en hémoglobine après le traitement comparativement aux valeurs basales dans tous les groupes, probablement causée par des saignements gastro-intestinaux. Les auteurs ont donc conclu que la dose réduite de kétoprofène, contrairement à celle élevée, serait plus sécuritaire chez le chien.

### **3.2. Effets adverses des anti-inflammatoires non stéroïdiens chez les oiseaux**

Les oiseaux semblent être moins sensibles au développement d'ulcères gastro-intestinaux à des doses thérapeutiques d'AINS que les mammifères. Cependant, des

lésions rénales, hépatiques et musculaires aux sites d'injection ont été notées suivant l'administration d'AINS.

Le méloxicam est souvent utilisé en médecine aviaire et il semble causer peu d'effets secondaires. Plusieurs études ont évalué la prévalence d'effets adverses du méloxicam chez la perruche ondulée (*Melopsittacus undulatus*) (Pereira & Werther, 2007), le gris du Gabon (*Psittacus erithacus*) (Montesinos et al., 2015), le pigeon (*Columba livia*) (Desmarchelier et al., 2012), la caille du Japon (*Coturnix japonica*) (Sinclair et al., 2012), et l'amazone d'Hispaniola (*Amazona ventralis*) (Dijkstra et al., 2015). Dans ces études, aucun effet adverse important aux doses testées n'a été noté au niveau rénal, gastro-intestinal ou hémostatique.

### 3.2.1. Effets gastro-intestinaux

Des lésions gastro-intestinales liées à l'administration d'AINS ont rarement été rapportées chez les espèces aviaires. Chez des crécerelles d'Amérique, l'administration de méloxicam à des doses élevées jusqu'à 20 mg/kg a causé des érosions ponctiformes visibles à l'évaluation macroscopique, ainsi que l'ulcération et la minéralisation de la muqueuse du proventricule/ventricule visibles à l'évaluation histologique (Summa et al., 2017). Cependant, ces lésions étaient présentes chez peu d'individus et elles n'étaient pas significativement corrélées avec la dose de méloxicam administrée. Une étude récente suggère également que l'administration orale de grapiprant, un antagoniste des récepteurs de la PGE<sub>2</sub>, pourrait causer une diminution de l'appétit et des régurgitations chez la buse à queue rousse (*Buteo jamaicensis*) (Rodriguez et al., 2021). Cependant, il demeure incertain si ces effets adverses ont été causés par le médicament ou le stress lié aux manipulations et au changement d'environnement durant l'étude.

### 3.2.2. Effets rénaux

La toxicité rénale des AINS peut aussi se produire lors d'administration d'AINS inhibiteurs préférentiels pour la COX-2 (Cuthbert et al., 2007; Pereira & Werther, 2007).

Cette toxicité rénale peut mener à l'insuffisance rénale, la goutte viscérale et la mort. Cependant, il est difficile de prévoir les effets adverses, car ceux-ci varient selon l'espèce et la dose administrée (Naidoo et al., 2010; Oaks & Meteyer, 2012; Palocz et al., 2016; Pereira & Werther, 2007; Swan et al., 2006). Chez les oiseaux, il est suggéré que la déshydratation est un facteur de risque additionnel à la toxicité rénale associée à l'administration d'AINS (Mulcahy et al., 2003; Palocz et al., 2016).

Les vautours de l'Ancien Monde (*Gyps spp.*) sont particulièrement susceptibles aux effets toxiques rénaux des AINS. En effet, la consommation de carcasses de bétails ayant reçu du diclofénac a presque causé l'extinction de trois espèces (*Gyps bengalensis*, *Gyps indicus* et *Gyps tenuirostris*). Les lésions rénales incluent une nécrose tubulaire aiguë sévère et de la goutte viscérale (Naidoo et al., 2010; Swan et al., 2006). La dose létale médiane de diclofénac est de 0,1 mg/kg chez l'une de ces espèces (*Gyps Bengalensis*) (Swan et al., 2006). Une étude a montré que la dose minimale létale de diclofénac varie selon l'espèce : poulet (25 mg/kg), pigeon (0,25 mg/kg), caille du Japon (10 mg/kg) et martin triste (*Acridotheres tristis* ; 10 mg/kg) (Hussain et al., 2008). Cependant, le diclofénac (25 mg/kg) n'a pas produit d'effets adverses chez l'urubu à tête rouge (*Cathartes aura*), un vautour du Nouveau Monde (Rattner et al., 2008). Le méloxicam est considéré comme un des AINS les plus sécuritaires chez ces vautours (Cuthbert et al., 2007; Swarup et al., 2007). Ces données révèlent qu'il y a une grande variation de susceptibilité aux effets toxiques des AINS entre les espèces aviaires et qu'il peut s'avérer risqué d'extrapoler des données d'une espèce à l'autre.

Chez les espèces aviaires très susceptibles aux effets toxiques rénaux AINS, il se produit une nécrose des tubules contournés proximaux, soit le site primaire de l'excrétion des AINS et de la sécrétion active de l'acide urique. Ainsi, la nécrose de ces tubules cause rapidement une insuffisance rénale et de la goutte viscérale. Les urates précipitent particulièrement au niveau des reins (Oaks & Meteyer, 2012). Différentes hypothèses ont été émises pour expliquer le processus de cette toxicité rénale. D'abord, le

diclofénac pourrait agir directement sur le métabolisme des cellules des tubules contournés proximaux. Aussi, chez certaines espèces, l'absence d'enzymes nécessaires pour métaboliser les AINS au niveau des tubules contournés proximaux pourrait réduire la clairance du médicament et donc augmenter sa concentration sanguine et ses effets toxiques. Ensuite, chez les mammifères, la toxicité rénale associée aux AINS est causée par la diminution de la perfusion rénale sanguine menant à de l'hypoxie. Il se pourrait donc que le même processus se produise chez les oiseaux et qu'il soit influencé par le système porte rénal aviaire (Oaks & Meteyer, 2012). Finalement, l'administration de flunixin méglumine a causé de la nécrose tubulaire chez la perruche ondulée (Pereira & Werther, 2007).

Une étude rétrospective a rapporté le nombre de morts associé à de la toxicité rénale chez des vautours, des rapaces et des oiseaux charognards lors de l'administration de différents AINS à des doses jugées thérapeutiques : diclofénac (28 morts sur 36 individus traités entre 0,1 et 2,5 mg/kg), flunixin méglumine (7 morts sur 23 individus traités entre 0,5 et 12,0 mg/kg), carprofène (5 morts sur 40 individus traités entre 1,0 et 7,6 mg/kg), kétoprofène (0 mort sur 20 individus traités entre 1,0 à 7,7 mg/kg) et méloxicam (0 mort sur 739 individus traités entre 1,0 à 7,7 mg/kg) (Cuthbert et al., 2007). Dans une autre étude, l'administration de doses élevées de diclofénac chez quatre espèces aviaires a causé un taux élevé de mortalités associées à de la nécrose tubulaire aiguë et de la goutte viscérale. Le poulet de chair était l'espèce la plus susceptible aux effets rénaux du diclofénac, suivi de la perruche ondulée, de la caille des blés et du pigeon (Palocz et al., 2016).

### 3.2.3. Effets hépatiques

Certaines études ont rapporté de la toxicité hépatique liée à l'administration d'AINS chez les oiseaux. L'administration de carprofène à des pigeons a causé de la lipidose hépatique, de la nécrose hépatique et une augmentation de la concentration en aspartate aminotransférase (AST) et en alanine aminotransférase (ALT) (Zollinger et al.,

2011). De plus, l'administration de méloxicam à des doses élevées à des crécerelles d'Amérique (*Falco sparverius*) a causé de la lipidose hépatique qui était significativement associée à l'augmentation de la dose de méloxicam (Summa et al., 2017). Une étude a aussi montré que l'administration de diclofénac chez le poulet, le pigeon, la caille du Japon et le martin triste a causé une congestion hépatique, de la lipidose hépatique, des hémorragies dans le parenchyme et de la nécrose des hépatocytes (Hussain et al., 2008).

#### 3.2.4. Effets musculaires aux sites d'injections

Quelques études chez les oiseaux ont rapporté des lésions musculaires aux sites d'injections de certains AINS. Chez la caille du Japon, Sinclair et al. (2012) ont rapporté que l'administration intramusculaire de méloxicam a causé significativement plus d'hémorragies, de myosite et de nécrose musculaire au site d'injection, comparativement au groupe témoin. Les dommages musculaires causent un relargage d'enzymes myocellulaires, donc dans cette étude il y avait aussi une augmentation plasmatique de l'AST et de la créatine kinase (CK). La formulation injectable du méloxicam contenait 15% d'éthanol et le pH était élevé (8 à 9), ce qui a pu contribuer aux dommages musculaires (Sinclair et al., 2012). Chez le canard colvert (*Anas platyrhynchos*), Machin et al. (2001) ont observé que l'administration intramusculaire de flunixin méglumine a causé de la nécrose musculaire au site d'injection. En effet, les préparations de flunixin contiennent du propylène glycol et il est connu que celui-ci peut causer des lésions musculaires (Machin et al., 2001). Chez le pigeon, l'administration de carprofène par voie intramusculaire a causé de la myosite et de la myodégénération aux sites d'injection dans les muscles pectoraux (Zollinger et al., 2011).

#### 3.2.5. Effets spécifiques du kétoprofène

Le vautour chasseur (*Gyps coprotheres*) est une espèce aviaire très susceptible à la toxicité du diclofénac, mais aussi à celle du kétoprofène. En effet, une dose orale unique

de 5 mg/kg a entraîné la mort de sept individus sur onze, et ce, 48 heures après l'administration du médicament (Naidoo et al., 2010). À la nécropsie, tous les oiseaux présentaient des signes sévères de néphrotoxicité, d'hépatotoxicité ainsi que de la goutte viscérale diffuse. De plus, il y avait une augmentation très importante de l'acide urique et de l'ALT. Cependant, cinq individus ont reçu une dose orale unique de 1 mg/kg et aucun signe de toxicité n'a été noté. Le métabolisme du kétoprofène chez cette espèce demeure inconnu, mais une hypothèse émise est que la toxicité pourrait être causée par une différence dans la pharmacogénomique des enzymes cytochrome P450 (Naidoo et al., 2010).

De plus, Mulcahy et al. (2003) ont rapporté une mortalité élevée d'eiders à lunettes (*Somateria fischeri*) et d'eiders à tête grise (*Somateria spectabilis*) suite à une anesthésie avec du propofol, de la bupivacaïne et du kétoprofène (2-5 mg/kg intramusculaire). Durant les quatre premiers jours suivant l'anesthésie, quatre mâles eiders à lunettes sur dix ainsi que cinq mâles eiders à tête grise sur six sont morts. Toutefois, aucune des dix femelles eiders à lunettes, des 20 femelles eiders à duvet (*Somateria mollissima*) et seulement une des cinq femelles eiders à tête grise, sont mortes. L'évaluation histologique a montré une nécrose tubulaire rénale sévère, une rhabdomyolyse aiguë et la présence de goutte viscérale. Les auteurs de cette étude ont suggéré que la plus grande susceptibilité à une toxicité rénale chez les mâles comparativement aux femelles était probablement causée par des différences comportementales durant la saison de reproduction qui les prédisposaient à une déshydratation (Mulcahy et al., 2003).

Chez le poulet de chair, une dose quotidienne intramusculaire de 3 mg/kg de kétoprofène a été administrée durant 5 jours (Mohan et al., 2012). Les oiseaux n'ont présenté aucun signe clinique anormal ni d'augmentation significative de la créatinine, de l'acide urique, de l'ALT ou de l'AST, comparativement au groupe témoin. De plus, l'évaluation histologique du foie et des reins n'a relevé aucun changement.

Machin et al. (2001) ont administré une dose unique intramusculaire de 5 mg/kg de kétoprofène à six canards colverts. La concentration en thromboxanes était significativement plus faible quatre heures après l'injection et elle est restée diminuée durant 12 heures, comparativement au groupe témoin. L'absence d'hémoglobine dans les selles a suggéré qu'il n'y avait pas de saignements gastro-intestinaux. Puis, l'évaluation *post-mortem* des reins, du foie, du proventricule, de l'intestin et du site d'injection dans le muscle n'a montré aucun changement histologique (Machin et al., 2001).

Chez la perruche ondulée, une dose quotidienne intramusculaire de 2,5 mg/kg de kétoprofène durant 3 ou 7 jours n'a pas causé de changements au niveau de la concentration en acide urique ou en protéines totales (Pereira & Werther, 2007).

## **4. Inflammation et effets des anti-inflammatoires non stéroïdiens chez les reptiles**

### **4.1. Expression de la cyclooxygénase 1 et de la cyclooxygénase 2**

Les AINS fonctionnent en inhibant la COX-1 et la COX-2, mais la distribution, la fonction et la quantité de ces isoformes peuvent varier entre les espèces (Sadler et al., 2016). Ainsi, deux études ont mesuré l'expression de la COX-1 et de la COX-2 dans divers tissus chez les reptiles. Premièrement, Royal et al. (2012) ont montré que chez la tortue boîte (*Terrapene carolina carolina*), la COX-1 et la COX-2 étaient exprimées dans les reins, le foie, les muscles inflammés et les muscles sains. Les concentrations en COX-1 et en COX-2 étaient plus élevées dans les muscles inflammés comparativement aux muscles sains. Cette différence était toutefois statistiquement significative pour la COX-1 seulement. L'expression de la COX-1 et de la COX-2 dans le foie et les reins suggère qu'une inhibition de ces isoformes par les AINS pourrait potentiellement causer des effets adverses. Cependant, l'activité de ces deux isoformes, c'est-à-dire leur capacité à synthétiser des prostanoïdes, n'a pas été évaluée. Il est donc difficile de prédire les

effets possibles de l'inhibition de ces isoformes sur le foie et les reins (Royal et al., 2012).

Deuxièmement, Sadler et al. (2016) ont observé que chez le python royal, la concentration en COX-2 était similaire dans la peau inflammée et les muscles lésés comparativement aux tissus sains. À l'inverse, la concentration en COX-1 était significativement plus élevée dans la peau inflammée comparativement à la peau saine. Cependant, contrairement aux résultats chez la tortue boîte (Royal et al., 2012), la concentration en COX-1 était étonnamment significativement plus faible dans les muscles lésés comparativement aux muscles sains. Par contre, les auteurs de l'étude ont suggéré que ce résultat était contradictoire avec les autres paramètres évalués et qu'il était probablement causé par certains biais (Sadler et al., 2016).

En résumé, lors de ces deux études, la COX-1 était davantage exprimée que la COX-2 lors d'inflammation (Royal et al., 2012; Sadler et al., 2016). Chez les mammifères, c'est plutôt la COX-2 qui augmente dans les tissus en cas d'inflammation. Ces études suggèrent donc que l'utilisation d'un AINS qui inhibe de manière non sélective la COX-1 et la COX-2, comme le kétoprofène, pourrait être plus efficace pour contrôler l'inflammation chez les reptiles qu'un inhibiteur préférentiel de la COX-2, comme le carprofène, le méloxicam, le déracoixib et le firocoxib (Duncan, 2012).

#### **4.2. Utilisation des anti-inflammatoires non stéroïdiens**

Les principales classes d'analgésique utilisées chez les reptiles sont les AINS, les opioïdes, les agonistes  $\alpha$ 2-adrénergiques et les anesthésiques locaux (Bisetto et al., 2018). Les AINS sont fréquemment utilisés chez les reptiles en clinique, mais leurs effets thérapeutiques et toxiques sont très peu connus. Pour le moment, peu d'études supportent les recommandations concernant le dosage, la voie d'administration et la fréquence d'administration de ces médicaments (Rockwell & Mitchell, 2019). Les AINS sont utilisés pour contrôler la douleur associée à des conditions pathologiques telles que

la pododermatite, l'inflammation parodontale, l'arthrose, l'ostéomyélite, la spondylite et la goutte articulaire. De plus, ils sont utilisés lors d'un trauma ou d'une douleur aiguë, dont en période postopératoire après une chirurgie (Rockwell & Mitchell, 2019). Il est important de surveiller les effets adverses qui sont décrits chez les mammifères et les oiseaux, bien qu'ils puissent être plus difficiles à identifier *ante-mortem* chez les reptiles (Duncan, 2012).

Bien que les propriétés analgésiques des AINS n'aient pas encore été démontrées chez les reptiles, les AINS pourraient constituer une alternative intéressante aux opioïdes. Par exemple, ils peuvent être utilisés chez des individus dont l'administration d'opioïdes est contre-indiquée en raison de leurs effets adverses, tels qu'une dépression respiratoire ou un réveil prolongé (Gregory et al., 2021). De plus, au cours des dernières années, la pénurie d'opioïdes aux États-Unis a directement affecté les centres de réhabilitation de tortues marines puisqu'il y avait un approvisionnement irrégulier en ces médicaments (Cerreta et al., 2019).

Les reptiles ont un métabolisme plus lent que celui des mammifères et des oiseaux. Ainsi, le temps de guérison tissulaire et osseuse est prolongé, donc l'inflammation est présente plus longtemps. Par conséquent, il est suggéré que les AINS devraient être administrés plus longtemps après une chirurgie ou un trauma que chez les mammifères ou les oiseaux. Par exemple, chez les reptiles, une plaie suturée suite à une chirurgie au laser ou par une incision au scalpel prend environ 4 à 8 semaines à guérir, comparativement à 5 à 10 jours chez les oiseaux et 7 à 14 jours chez les mammifères (Mader et al., 2006). Le temps de guérison d'une fracture traumatique est d'environ 6 à 18 mois chez les reptiles, comparativement à 4 à 8 semaines chez les mammifères et 2 à 6 semaines chez les oiseaux. Les fractures pathologiques causées par une maladie métabolique des os semblent guérir plus rapidement, soit environ en 6 à 8 semaines lorsque la cause est corrigée (Knafo & Karlin, 2019).

Puisque les reptiles sont des ectothermes, il est important qu'ils soient gardés à une température optimale durant la période de traitement. Il est aussi recommandé de corriger la déshydratation et la malnutrition, car ces conditions peuvent modifier l'absorption et la clairance des médicaments et contribuer aux effets aderses rénaux et hépatiques (Duncan, 2012).

Généralement, la voie parentérale est privilégiée pour l'administration des médicaments chez les reptiles. En effet, il peut être compliqué d'administrer des traitements oraux chez certaines espèces, notamment les tortues (Duncan, 2012). Les voies intramusculaire et sous-cutanée sont les plus couramment utilisées, car elles sont faciles d'accès, et l'absorption et la distribution sont rapides. Chez les reptiles, les médicaments doivent être administrés dans les membres thoraciques. En effet, lorsqu'un médicament est administré dans les membres pelviens, celui-ci transite par le système porte rénal (en cas d'élimination rénale tubulaire) et le système porte hépatique, et il peut être métabolisé plus rapidement (Coutant et al., 2018; Duncan, 2012). Cependant, il faut s'assurer que l'hydratation et la température soient optimales afin de permettre une bonne perfusion musculaire. De plus, il arrive parfois qu'une administration répétée intramusculaire cause de la myosite, une myopathie, une parésie ou une modification de la démarche. Cette complication peut arriver particulièrement à cause des composés irritants du médicament ou chez les reptiles qui ont une faible masse musculaire (Perry & Mitchell, 2019).

### **4.3. Études pharmacocinétiques**

Des études pharmacocinétiques de quelques AINS chez les reptiles ont été publiées, telles que le méloxicam (Di Salvo et al., 2016; Divers, Papich, et al., 2010; Lai et al., 2015; Norton et al., 2021; Uney et al., 2016), le kétoprofène (Thompson et al., 2018; Tuttle et al., 2006), le kétorolac trométhamine (Cerreta et al., 2019; Gregory et al., 2021), l'acide tolfénamique (Corum et al., 2019; Raweewan, Chomcheun, et al., 2020; Raweewan, Laovechprasit, et al., 2020) et le naproxène (Vree et al., 1994). Ces données permettent

de déterminer si la voie d'administration, la dose et la fréquence semblent appropriées en émettant l'hypothèse que la concentration plasmatique permettant un effet anti-inflammatoire chez les reptiles est la même que chez les mammifères.

Deux études de pharmacocinétique du kétoprofène ont été effectuées. Premièrement, Tuttle et al. (2006) ont montré que chez l'iguane vert, l'administration intraveineuse (IV) suivait un modèle de distribution à deux compartiments. De plus, une dose intraveineuse de kétoprofène de 2 mg/kg avait une demi-vie terminale de 31 heures, soit plus longue que chez les mammifères. De plus, la biodisponibilité lors de l'administration intramusculaire était de 78%. Les résultats de cette étude suggèrent que la fréquence d'administration nécessaire chez les reptiles pourrait être plus basse que chez les mammifères (Tuttle et al., 2006).

Deuxièmement, chez la tortue caouanne (*Caretta caretta*), Thompson et al. (2018) suggèrent qu'une dose quotidienne de 2 mg/kg intraveineuse ou intramusculaire serait efficace durant 24 heures puisque la concentration plasmatique était celle qui est considérée efficace chez les mammifères. Cependant, la dose efficace de kétoprofène n'est pas connue chez la tortue de mer. Dans cette étude, un effet indésirable possible du kétoprofène a été noté. En effet, un individu sur six a présenté de l'anémie après avoir reçu une dose quotidienne intramusculaire de 2 mg/kg de kétoprofène durant 3 jours. Cette anémie s'est résolue en deux semaines. Les tortues avaient subi une coelioscopie pour déterminer leur sexe, puis sept prises de sang d'un volume de 1,5 mL chacune ont été effectuées sur 72 heures. La cause de cette anémie est demeurée inconnue, mais les hypothèses émises incluent des saignements internes suivant la coelioscopie ou des saignements sous-cutanés suivant les prises de sang répétées. Il n'est pas non plus possible d'exclure la possibilité d'un effet indésirable du kétoprofène, comme des saignements gastro-intestinaux (Thompson et al., 2018).

#### **4.4. Études pharmacodynamiques**

Jusqu'à maintenant, très peu d'études pharmacodynamiques portant sur des AINS chez les reptiles ont été publiées, dont aucune sur le kétoprofène. Olesen et al. (2008) ont administré à cinq pythons royaux une dose intramusculaire de méloxicam de 0,3 mg/kg avant une chirurgie. Aucune différence au niveau du rythme cardiaque, de la pression sanguine et de la concentration en certaines hormones de stress n'a été notée comparativement au groupe témoin. Ainsi, cette étude n'a pas permis de conclure si le méloxicam pourrait avoir un effet analgésique chez le python royal (Olesen et al., 2008).

Chez la tortue *Kinixys spekii*, l'administration d'acide acétylsalicylique (100 ou 200 mg/kg) ou de flunixin méglumine (50 ou 100 mg/kg), 30 minutes avant une stimulation chimique avec du formol, n'a pas significativement diminué la durée de la rétraction du membre pelvien dans la carapace (Wambugu et al., 2010). La conclusion était la même pour l'administration de dexaméthasone (20 ou 50 mg/kg) et d'hydrocortisone (100 ou 200 mg/kg), soit deux anti-inflammatoires stéroïdiens. Cependant, il y avait une différence significative lors de l'administration de morphine et de péthidine, soit deux opioïdes.

#### **4.5. Effets adverses**

Seulement quelques études ont évalué les effets adverses potentiels des AINS chez les reptiles. D'abord, Harms et al. (2021) ont administré 2 mg/kg de kétoprofène par voie intramusculaire une fois par jour durant 5 jours à huit tortues caouannes. Aucun changement n'a été noté au niveau du poids, des signes cliniques, des paramètres hématologiques et biochimiques ainsi que de l'hémostase évaluée avec la thromboélastographie.

Chez l'iguane vert, une administration quotidienne orale de méloxicam à des doses élevées (1 ou 5 mg/kg) durant 12 jours n'a pas induit de changements histologiques au niveau des tissus gastriques, hépatiques et rénaux (Divers, Papich, et al., 2010).

Dans une autre étude chez l'iguane vert, sept individus ont reçu une dose quotidienne intramusculaire de carprofène (2 mg/kg) et cinq individus ont reçu une dose quotidienne intramusculaire de méloxicam (0,2 mg/kg), durant 10 jours (Trnkova et al., 2007). Le groupe traité avec le carprofène avait des concentrations plasmatiques en AST et ALT significativement plus élevées que le groupe témoin ou traité avec du méloxicam. Cependant, ces changements ne sont pas considérés significatifs cliniquement et tous les paramètres hématologiques et biochimiques des individus des deux groupes traités étaient dans les valeurs physiologiques de référence.

Chez la tortue de Floride, une dose unique de méloxicam (0,2 mg/kg) intraveineuse ou intramusculaire n'a pas causé d'effets adverses (Uney et al., 2016).

#### **4.6. Caractéristiques physiologiques particulières des reptiles**

Chez les reptiles, une manière d'effectuer de la thermorégulation est d'augmenter leur fréquence cardiaque lorsque la température est élevée et de diminuer leur fréquence cardiaque lorsque la température est basse. Ce processus se nomme hystérésis de la fréquence cardiaque (Seebacher & Franklin, 2003). Seebacher and Franklin (2003) ont montré que les prostaglandines influencent l'hystérésis de la fréquence cardiaque chez le dragon barbu. En effet, une dose de 8 mg/kg intrapéritonéale (IP) de diclofénac a été administrée afin d'inhiber la COX-1 et la COX-2. Chez le groupe traité, la fréquence cardiaque n'était pas statistiquement différente lorsque la température ambiante était élevée comparativement à lorsque la température était basse. Toutefois, le groupe témoin avait une fréquence cardiaque statistiquement plus élevée lorsque la température était plus élevée que lorsqu'elle était plus basse. De plus, lors de l'administration de PGI<sub>2</sub> et de PGF<sub>2α</sub> à une température fixe, la fréquence cardiaque a statistiquement augmenté. Cependant, la fréquence cardiaque n'a pas changé lors de l'administration de thromboxane B<sub>2</sub> à la dose testée. Les prostaglandines agissent en effectuant une vasoconstriction ou une vasodilatation au niveau des vaisseaux

périphériques, ce qui produit probablement un réflexe barostatique sur le cœur (Seebacher & Franklin, 2003).

Chez les mammifères, l'augmentation du temps de coagulation lors de l'administration d'AINS est causée par une inhibition de la COX-1 dans les plaquettes. Les plaquettes des mammifères ne possèdent pas de noyaux, donc elles ne peuvent pas synthétiser de COX-1, ce qui cause une inhibition prolongée des thromboxanes. Cependant, les thrombocytes (équivalent des plaquettes) des reptiles contiennent un noyau et elles peuvent donc théoriquement synthétiser de la COX-1. Ainsi, il est suggéré que les AINS pourraient avoir moins d'effets adverses sur le temps de coagulation chez les reptiles (Dijkstra et al., 2015).

La majorité des reptiles sont uricotéliques et leurs reins contiennent seulement quelques milliers de néphrons comparativement aux reins des mammifères qui en contiennent environ un million. Ainsi, il est suggéré que les reptiles pourraient être plus susceptibles aux effets toxiques rénaux des AINS. De plus, les reptiles mangent moins souvent que les mammifères, donc l'administration d'AINS lorsque leur estomac est vide pourrait augmenter leur susceptibilité aux effets adverses gastro-intestinaux (Divers, Papich, et al., 2010).

## **5. Évaluation de la fonction des principaux systèmes pouvant être affectés par les anti-inflammatoires non stéroïdiens**

Étant donné que les AINS peuvent engendrer des dommages rénaux, hépatiques, gastro-intestinaux et nuire à la coagulation sanguine, les méthodes d'évaluation de la fonction et de l'intégrité de ces systèmes seront discutées ci-dessous.

### **5.1. Évaluation de la fonction rénale chez les reptiles**

Les reptiles gardés en captivité souffrent fréquemment de maladies rénales (Wilkinson & Divers, 2020). Les causes principales de maladie rénale chronique ou d'insuffisance rénale aiguë incluent l'excès de protéines, la déshydratation, une température non optimale, l'hyperparathyroïdie secondaire d'origine nutritionnelle, une infection ou une intoxication (Divers & Innis, 2019). Les reptiles atteints d'une maladie rénale présentent des signes non spécifiques et les signes cliniques apparaissent souvent seulement lorsque l'atteinte est devenue très sévère (Wilkinson & Divers, 2020).

Chez les reptiles, il peut être difficile de diagnostiquer une maladie rénale en se basant sur les paramètres sanguins. En effet, ils sont des indicateurs peu spécifiques et peu sensibles de la fonction rénale puisqu'ils peuvent être affectés par d'autres facteurs. De plus, les paramètres sanguins augmentent souvent seulement lorsque la maladie est rendue à un stade sévère et avancé (Hernandez-Divers et al., 2005). Les paramètres sanguins sont aussi influencés par l'espèce, le sexe, l'âge, la saison, le statut reproducteur, la technique de laboratoire utilisée ainsi que le lieu et la technique utilisés pour effectuer la prise de sang (Selleri & Hernandez-Divers, 2006; Wilkinson & Divers, 2020).

Des radiographies peuvent permettre de détecter une augmentation de taille des reins ainsi que la présence d'urolithes, de minéralisation des tissus mous ou d'une diminution de la densité osseuse (Wilkinson & Divers, 2020).

### 5.1.1. Paramètres hématologiques

Une anémie non régénérative secondaire à une maladie rénale chronique et à un manque d'érythropoïétine peut être observée, mais celle-ci est non spécifique. Aussi, lorsqu'il y a une anémie et une déshydratation concomitantes, l'hématocrite peut être dans les valeurs normales à cause de l'hémoconcentration (Wilkinson & Divers, 2020).

Lors de maladies rénales aiguës, il peut y avoir une leucocytose associée, mais ce changement est plus rare lors de maladies chroniques. Une éosinophilie peut aussi être observée lorsqu'il y a présence de parasites rénaux. Cependant, lorsqu'un reptile n'est pas gardé à une température optimale, il peut être immunodéprimé et il n'y aura pas une réponse leucocytaire appropriée (Selleri & Hernandez-Divers, 2006; Wilkinson & Divers, 2020).

### 5.1.2. Paramètres biochimiques

Chez les reptiles, il y a une variation entre les espèces concernant l'excrétion des trois principaux déchets azotés, soit l'ammoniaque, l'urée et l'acide urique (Wilkinson & Divers, 2020). Les reptiles vivant dans l'eau douce, comme les tortues aquatiques et les crocodiliens, peuvent excréter une proportion de leurs déchets azotés sous forme d'ammoniaque. En effet, ils ne sont pas à risque de déshydratation et ils n'ont donc pas particulièrement besoin de conserver l'eau corporelle. Puis, les reptiles qui ont un accès intermittent à l'eau douce, dont certains chéloniens, ont davantage besoin de conserver de l'eau, donc ils convertissent leurs déchets azotés en urée. En effet, l'urée est moins toxique que l'ammoniaque et elle est soluble dans l'eau. Finalement, les reptiles qui ont rarement accès à de l'eau douce convertissent l'urée en acide urique qui est moins toxique, mais insoluble dans l'eau. L'acide urique nécessite moins d'eau que l'urée pour être excrété par transport actif par les tubules proximaux (Wilkinson & Divers, 2020).

Chez la majorité des reptiles, l'acide urique est le produit final du métabolisme de l'azote. L'hyperuricémie est cependant un test peu sensible et peu spécifique pour évaluer une maladie rénale chez les reptiles. En effet, une augmentation du taux d'acide urique sanguin peut être causée par une réduction de la sécrétion tubulaire rénale, mais aussi par une déshydratation et une diminution de la perfusion sanguine rénale. De plus, l'acide urique peut être élevé physiologiquement chez les reptiles désertiques et suite à un repas chez les espèces carnivores. Une hyperuricémie est seulement détectée lorsque les dommages rénaux sont sévères. Aussi, une hyperuricémie persistante ou

importante indique souvent une insuffisance rénale sévère, qu'elle soit chronique ou aiguë. Lors d'insuffisance rénale terminale, l'hyperuricémie sévère peut provoquer de la goutte articulaire et viscérale (Selleri & Hernandez-Divers, 2006; Wilkinson & Divers, 2020).

En plus de l'acide urique, il est recommandé de mesurer la concentration sanguine en ammoniacque et en urée chez les chéloniens et les crocodiliens. Cependant, l'ammoniacque et l'urée peuvent être influencées par l'hydratation, les effets postprandiaux, la fonction hépatique et les maladies rénales (Heatley & Russell, 2019). L'analyse de la concentration sanguine en ammoniacque est plus compliquée cliniquement, car le sang doit être collecté dans une seringue froide héparinée, conservé sur de la glace et analysée en moins d'une heure (Divers & Innis, 2019). Certaines tortues de mer carnivores ont physiologiquement une concentration sanguine élevée en urée pour conserver davantage l'eau corporelle puisqu'elles vivent dans un environnement hypertonique (Boyer & Innis, 2019). De plus, certains chéloniens terrestres désertiques normalement hydratés ont une concentration sanguine élevée en urée afin de diminuer la perte d'eau corporelle (Campbell, 2014).

En bref, les concentrations sanguines en acide urique, en urée et en ammoniacque sont des indicateurs peu sensibles et peu spécifiques de la fonction rénale. D'abord, des changements sont souvent notés seulement lorsque la majorité de la fonction rénale est perdue (Divers & Innis, 2019). De plus, leurs proportions relatives varient selon l'état d'hydratation de l'animal, les effets postprandiaux et les maladies hépatobiliaires. Il est recommandé d'effectuer plusieurs mesures de ces déchets azotés pour augmenter la spécificité de ce test (Divers & Innis, 2019; Wilkinson & Divers, 2020).

Lors d'atteinte glomérulaire chronique, une perte de protéines peut mener à une hypoalbuminémie, et de l'œdème peut être présent dans les cas sévères (Divers & Innis, 2019; Wilkinson & Divers, 2020). L'électrophorèse des protéines est une technique plus

précise pour mesurer la concentration en albumine que certains analyseurs fréquemment utilisés. En effet, chez les lézards et les chéloniens, les analyseurs de biochimie utilisant du vert de bromocrésol peuvent donner des valeurs erronées (Wilkinson & Divers, 2020).

La créatinine sanguine n'est pas un paramètre sensible pour évaluer la fonction rénale chez les reptiles (Hernandez-Divers et al., 2005; Selleri & Hernandez-Divers, 2006; Wilkinson & Divers, 2020).

L'AST, la CK, la lactate déshydrogénase et la gamma-glutamyl transférase (GGT) augmentent souvent lors de dommages rénaux aigus, mais rarement lors de maladies chroniques. Cependant, ils sont peu spécifiques pour évaluer la fonction rénale puisqu'ils sont présents dans plusieurs tissus (Hernandez-Divers et al., 2005; Wilkinson & Divers, 2020). De plus, les enzymes produites par les reins sont souvent éliminées dans l'urine, donc leurs concentrations sanguines n'augmentent pas nécessairement lors de dommages rénaux. Par exemple, la GGT est synthétisée en grande quantité dans les reins des reptiles (Mason et al., 2022). Toutefois, lors d'un dommage rénal, sa concentration sanguine augmente peu tandis que sa concentration urinaire augmente fortement (Adamovicz et al., 2019).

Chez certaines espèces, dont l'iguane vert, une diminution ou une inversion du ratio entre le calcium et le phosphore peut être un bon indicateur de maladie rénale (Hernandez-Divers et al., 2005). Par contre, ce ratio est peu sensible et peu spécifique, car il peut être influencé par plusieurs facteurs et il est parfois modifié seulement lorsque les dommages sont sévères (Selleri & Hernandez-Divers, 2006). De plus, cette allégation reprise dans des articles de revues et des livres de référence provient d'un recueil de conférences correspondant à des cas cliniques de 12 iguanes verts dont la régie n'était pas détaillée (Boyer et al., 1996). La majorité des analyseurs de biochimie mesurent le calcium total, mais il est préférable de mesurer le calcium ionisé, soit la

forme biologiquement active. En effet, la concentration sanguine en calcium total inclut le calcium ionisé (50%), le calcium lié aux protéines (40%) et les complexes de calcium (10%). Ainsi, lors d'hypoalbuminémie, la fraction en calcium lié aux protéines diminue et le calcium total diminue donc aussi. Les femelles gravides ont souvent une concentration en calcium total très élevée, mais une concentration en calcium ionisé normale (Selleri & Hernandez-Divers, 2006). De plus, un reptile atteint d'hyperparathyroïdie secondaire d'origine nutritionnelle peut avoir une concentration normale en calcium total et/ou une concentration basse en calcium ionisé jusqu'au stade terminal de la maladie. Il est donc important d'être en mesure de différencier les reptiles atteints de cette condition avec ceux atteints d'une maladie rénale (Wilkinson & Divers, 2020).

Les concentrations sanguines en sodium, en potassium et en chlore peuvent aussi être modifiées lors de dommages rénaux. Par exemple, une hyponatrémie et une hyperkaliémie peuvent être observées lors de dommages au niveau des tubules distaux, du cloaque, du colon, de la vessie ou des glandes à sel (Divers & Innis, 2019). La diminution de l'excrétion de potassium par les reins peut aussi causer une acidose métabolique. De plus, une hyperchlorémie peut être causée par des dommages tubulaires rénaux, une déshydratation ou un problème au niveau des glandes à sel (Wilkinson & Divers, 2020).

### 5.1.3. Analyses urinaires

Chez les reptiles, les analyses urinaires ne sont pas très utiles cliniquement et elles comportent plusieurs difficultés et limitations. D'abord, les reptiles n'ont pas d'anses de Henlé et ils ne peuvent donc pas concentrer leurs urines. Ainsi, l'évaluation de la densité urinaire n'est pas très utile pour évaluer la fonction rénale (Divers & Innis, 2019). De plus, l'urine provenant des reins passe par l'urodéum du cloaque avant d'entrer dans la vessie, donc l'urine de la vessie n'est pas stérile. Certaines espèces n'ont pas de vessie, et une cystocentèse est seulement possible chez les espèces qui en possèdent une. Par

contre, la cystocentèse comporte des risques, car la paroi de la vessie est très mince et fragile et il peut y avoir des fuites urinaires d'urine non stérile dans le coelome (Divers & Innis, 2019).

Les voies urinaires, génitales et intestinales débouchent toutes au niveau du cloaque. Donc, un échantillon urinaire provenant d'une excrétion naturelle peut être contaminé par ces systèmes (Divers & Innis, 2019). Ainsi, pour obtenir un échantillon d'urine représentatif, il est essentiel de cathétériser les uretères. Malgré ces limitations, une analyse urinaire peut tout de même être utile pour évaluer les sédiments urinaires. Par exemple, la présence d'érythrocytes, de leucocytes, de cellules épithéliales, des cylindres ou des microorganismes peut indiquer une infection (Wilkinson & Divers, 2020).

#### 5.1.4. Clairance de l'iohexol

Chez les reptiles, la clairance de l'iohexol est une technique sécuritaire et efficace pour estimer le DFG et la fonction rénale (Hernandez-Divers et al., 2005; Kennedy et al., 2012). En effet, l'iohexol est excrété exclusivement par filtration glomérulaire. Cette technique consiste à administrer par voie intraveineuse une dose unique d'iohexol, un produit de contraste couramment utilisé, et de calculer sa concentration sanguine à plusieurs reprises après son administration (Wilkinson & Divers, 2020). Chez la tortue de Kemp (*Lepidochelys kempii*), le taux de clairance d'iohexol de 18 individus en santé était de 9 à 17,4 mL/kg/h (moyenne de 12,6 et médiane de 13,2) et pour trois individus avec une maladie rénale, il était de 3, 9,2 et 10,2 mL/kg/h (Kennedy et al., 2012). Les auteurs de l'étude ont donc suggéré que le taux de clairance de l'iohexol pourrait diminuer lors de maladies rénales chez la tortue. Innis et al. (2016) ont mesuré le taux de clairance d'iohexol chez des tortues de Kemp déshydratées, qui s'étaient échouées à cause de leur température corporelle trop basse, lors de leur arrivée dans un centre de réhabilitation. Puis, ce taux a été calculé une deuxième fois en soins, en moyenne 126 jours plus tard, lorsqu'elles étaient en bonne santé. Les valeurs des tortues à leur arrivée

étaient statistiquement plus basses pour le DFG et la température corporelle, et statistiquement plus élevées pour les concentrations en iohexol, en acide urique et en sodium. Ces données indiquent donc que les tortues échouées avaient une fonction rénale diminuée (Innis et al., 2016). Peu d'études chez les reptiles ont évalué l'effet de l'état d'hydratation et de la température sur le DFG. Pour évaluer la fonction rénale à l'aide de l'iohexol, il est tout de même recommandé de garder le reptile à une température ambiante optimale, de s'assurer qu'il soit bien hydraté et qu'il ait accès à de l'eau en tout temps, et de le mettre à jeun 24 heures avant l'étude (Hernandez-Divers et al., 2005).

Le DFG peut être affecté par l'état d'hydratation corporelle et la température chez les reptiles (Hernandez-Divers & Innis, 2006). Dans une étude chez trois espèces de lézards, le DFG avait tendance à diminuer lors de déshydratation sévère, et à augmenter lors de surcharge d'eau corporelle (Roberts & Schmidt-Nielsen, 1966). Cependant, la modification du DFG en réponse à une variation de l'état d'hydratation varie selon les espèces de reptiles et leur type d'habitat naturel (humide ou désertique) (Roberts & Schmidt-Nielsen, 1966). De plus, chez certaines espèces, dont le varan de Gould (*Varanus gouldii*), pouvant excréter le sel en excès par leurs glandes à sel, une augmentation sévère de l'osmolarité plasmatique ne cause pas une diminution significative du DFG telle qu'attendu (Green, 1972). En effet, plusieurs espèces de reptiles ont des mécanismes efficaces pour réabsorber l'eau par les tubules, le colon, le cloaque et la vessie (Green, 1972; Hernandez-Divers et al., 2005). Chez le varan de Gould, une surcharge en eau corporelle cause une augmentation significative du DFG (Green, 1972). En bref, l'évaluation de la fonction rénale des reptiles doit prendre en compte la relation avec le cloaque, la vessie et les glandes à sel chez les espèces dont ces organes sont présents (Roberts & Schmidt-Nielsen, 1966). Finalement, chez le scinque rugueux (*Tiliqua rugosa*), le DFG augmentait avec l'augmentation de la température ambiante (14 à 37 °C) (Shoemaker et al., 1966).

### 5.1.5. Biopsie rénale

La biopsie rénale est la technique de choix pour établir un diagnostic lors d'une maladie rénale. En effet, il arrive souvent que des reptiles soient présentés avec des signes cliniques non spécifiques et qu'aucun changement significatif ne soit noté au niveau des paramètres sanguins ou des tests d'imagerie médicale (Wilkinson & Divers, 2020).

L'endoscopie est une technique très utile pour évaluer les maladies rénales, car elle permet de visualiser les organes et d'effectuer des biopsies. Cette technique est sécuritaire, efficace et rapide, donc l'anesthésie est de courte durée (Divers & Innis, 2019). Dans une étude sur les iguanes verts, des biopsies rénales ont été effectuées sur chaque rein en passant par la région paralombaire ipsilatérale (Hernandez-Divers et al., 2005). Un endoscope rigide de 2,7 mm a été utilisé avec des pinces à biopsie de 1,6 mm. La durée moyenne pour la coelioscopie bilatérale et la collection de quatre échantillons (deux par rein) était de 13,8 minutes. Aucune complication n'a été observée. Dans cette étude, les échantillons des biopsies étaient d'une très bonne qualité et permettaient une évaluation histologique. L'utilité de la biopsie par endoscopie guidée est cependant parfois limitée par le coût, l'état général du patient, les risques anesthésiques ainsi que le délai avant d'obtenir les résultats des biopsies (Wilkinson & Divers, 2020).

Le dragon barbu est un des reptiles les plus populaires en captivité et il a la particularité d'avoir un cœlome large et comprimé dorso-ventralement. Frei et al. (2020) ont comparé l'approche ventrale comparativement à l'approche latérale gauche du cœlome lors d'une coelioscopie effectuée avec un endoscope de 2,7 mm recouvert d'une gaine de 4,8 mm chez 18 dragons barbuis. L'approche latérale prenait statistiquement plus de temps que l'approche ventrale. Cependant, la visualisation du rein gauche était statistiquement plus facile par l'approche latérale gauche que l'approche ventrale.

Pour réaliser une biopsie des reins en position pelvienne chez les iguanidés, une incision de la partie crânio-latérale de la queue peut être effectuée. Cette technique est

particulièrement utile lorsqu'un endoscope n'est pas disponible, lorsque les reins pelviens sont difficilement accessibles par approche chirurgicale et lorsqu'il n'y a pas de néphromégalie. Cependant, l'incision permet uniquement d'obtenir une biopsie du rein ipsilatéral, et seulement de la portion caudale du rein (Divers & Innis, 2019).

### 5.1.6. Autres paramètres de la fonction rénale chez les mammifères et les oiseaux

#### 5.1.6.1. N-acétyl- $\beta$ -D-glucosaminidase

La N-acétyl- $\beta$ -D-glucosaminidase (NAG) est une enzyme lysosomale retrouvée principalement dans les cellules des tubules contournés proximaux. Elle est un biomarqueur sensible pour détecter des dommages tubulaires rénaux chez les mammifères puisque sa concentration urinaire augmente généralement avant la modification des autres indicateurs de la fonction rénale, comme l'urée et la créatinine sérique (Nabity et al., 2012; Sato et al., 2002; Smets et al., 2010). La NAG peut donc être un indicateur utile, en combinaison avec la biochimie rénale, pour détecter des dommages rénaux (Rush et al., 2016). Cependant, sa concentration peut être faussement augmentée lorsque les animaux sont déshydratés ou lorsque les échantillons sanguins sont congelés (Wimsatt et al., 2009).

La NAG est aussi présente dans les cellules des tubules rénaux aviaires et elle est libérée dans le sang ou dans l'urine lors de nécrose cellulaire (Dijkstra et al., 2015). Forman et al. (1996) ont montré que chez la poule pondeuse, la concentration normale en NAG sérique était 100 fois plus faible que la concentration urinaire. Dans cette étude, l'urine a été collectée en canulant les uretères. Une analyse histochimique du tissu rénal normal a relevé que la NAG était présente exclusivement dans les tubules rénaux, comme chez les mammifères. Ensuite, une dose élevée de vitamine D<sub>3</sub> a été ajoutée dans l'eau des poules dans le but de causer des lésions rénales. La concentration urinaire en NAG était significativement plus élevée après 40 jours comparativement au groupe témoin (Forman et al., 1996).

Une étude chez le pigeon a rapporté que la concentration en NAG dans les tissus rénaux normaux était statistiquement plus élevée (six fois plus) que dans le pancréas, le foie, le muscle squelettique, le petit intestin et le gros intestin (Wimsatt et al., 2009). Par ailleurs, l'administration de gentamicine à des doses néphrotoxiques a causé une augmentation significative de la concentration en NAG sérique (6 fois plus) et en NAG urinaire (50 fois plus), comparativement au groupe témoin. Dans cette étude, les échantillons d'urine ont été collectés sur du papier ciré à l'aide d'une pipette, ce qui est moins traumatique que la canulation des uretères et davantage applicable en clinique. Cependant, il peut y avoir une contamination de l'urine par les selles.

Dijkstra et al. (2015) ont administré du méloxicam (1,6 mg/kg) par voie orale deux fois par jour durant 15 jours à des amazones d'Hispaniola. Ce traitement n'a causé aucun changement négatif au niveau rénal, gastro-intestinal ou hémostatique. La concentration sérique en NAG a augmenté significativement pour le groupe traité et le groupe témoin, donc ce changement n'était pas attribué à l'effet du traitement. Les auteurs ont suggéré que cette augmentation a probablement été induite par le stress lié aux manipulations et la diminution de la consommation d'eau avant les prises de sang, ce qui souligne l'importance d'un groupe témoin. La concentration en NAG urinaire était la même avant et après le traitement et entre les groupes (Dijkstra et al., 2015).

En résumé, la concentration en NAG augmente davantage dans l'urine que dans le sang lors de dommages tubulaires chez les oiseaux. Ainsi, la NAG urinaire pourrait être plus utile que la NAG sanguine, mais un échantillon d'urine est plus difficile à récolter qu'un échantillon sanguin chez les oiseaux (Dijkstra et al., 2015).

À notre connaissance, la NAG n'a pas encore été étudiée chez les reptiles.

#### 5.1.6.2. Diméthylarginine symétrique

Chez les mammifères, évaluer le DFG permet d'estimer la fonction rénale et grader la sévérité de la maladie rénale (Hall et al., 2016). La diméthylarginine symétrique (SDMA) est un biomarqueur de la fonction rénale qui est mesuré dans le sang. Environ 90% de la SDMA est excrétée par les reins, donc il s'agit d'un bon indicateur du DFG (Hall et al., 2016). Elle permet de diagnostiquer une maladie rénale plus tôt que la créatinine et comparativement à cette dernière, la SDMA n'est pas influencée par la masse musculaire (Hall et al., 2016). Une étude a montré que la SDMA permet de détecter une maladie rénale chronique précocement lorsqu'il y a moins de 30% de la fonction rénale perdue comparativement à 50% pour la créatinine (Nabity et al., 2015). Aussi, la SDMA permet de grader la sévérité des maladies rénales chroniques précoces et avancées (Hall et al., 2016).

Les résultats d'une étude montrent que la concentration sérique en SDMA, chez des chiens atteints de maladies rénales chroniques, a augmenté en moyenne 9,8 mois avant la concentration sérique en créatinine (Hall et al., 2016). Chez des chats atteints d'une maladie rénale chronique, la concentration sérique en SDMA a augmenté en moyenne 17 mois avant la concentration sérique en créatinine (Hall et al., 2014). Une étude a révélé que la concentration en SDMA était significativement plus basse chez les chiens en santé que les chiens atteints d'une maladie rénale chronique ou d'une maladie rénale aiguë (Dahlem et al., 2017). Cependant, il n'y avait de pas différence significative entre la concentration en SDMA chez les chiens atteints d'une maladie rénale chronique ou aiguë. Finalement, dans les trois études décrites précédemment, le DFG était significativement corrélé avec la créatinine et la SDMA (Dahlem et al., 2017; Hall et al., 2016; Hall et al., 2014). Étant donné que le DFG est affecté par l'état d'hydratation, il est suggéré que la SDMA pourrait aussi être affectée.

À notre connaissance, il semblerait que la SDMA n'a pas encore été étudiée chez les oiseaux et les reptiles.

Pour conclure, la combinaison de l'analyse des paramètres biochimiques rénaux, de la clairance de l'iohexol et de biopsies rénales pourrait permettre d'optimiser l'évaluation de l'intégrité et de la fonction rénale chez les reptiles. En revanche, la collecte d'urine pour effectuer des analyses urinaires, dont mesurer la concentration en NAG, demeure une procédure relativement invasive et peu recommandée en clinique.

## **5.2. Évaluation de la fonction hépatique chez les reptiles**

Les maladies hépatiques sont communes chez les reptiles, mais la majorité des cas sont diagnostiqués *post-mortem* (Divers, 2019). Les paramètres sanguins sont très peu spécifiques pour identifier une maladie hépatique. L'évaluation des enzymes hépatobiliaires (ALT, AST, GGT, phosphatase alcaline (ALP), sorbitol déshydrogénase (SDH)) n'est pas très utile chez les reptiles, car des isoenzymes sont présentes dans plusieurs tissus. De plus, une hypoalbuminémie peut être observée lors de maladies hépatiques chroniques, mais elle peut être causée par d'autres facteurs qu'une diminution de production par le foie (Divers, 2019).

La biopsie hépatique guidée par endoscopie est une technique rapide, sécuritaire et sensible pour évaluer l'intégrité du foie chez les reptiles. En effet, elle permet d'obtenir un diagnostic par histologie. Elle a été utilisée chez plusieurs espèces de reptiles, et ce, même chez des petits individus de moins de 100 g (Hernandez-Divers et al., 2007). Hernandez-Divers et al. (2007) ont effectué cette procédure chez onze iguanes verts en plaçant les animaux en position latérale gauche et en insérant un endoscope rigide de 2,7 mm au centre de la région paralombaire droite. Trois échantillons hépatiques ont été prélevés chez chaque individu à l'aide de pinces à biopsie de 1,7 mm. Une nécropsie effectuée après 10 jours n'a relevé aucune anomalie au niveau du site d'entrée de l'endoscope ou au niveau du foie. La durée moyenne de l'anesthésie était de 24 minutes et celle pour la chirurgie était de 6,8 minutes. De plus, les échantillons étaient considérés diagnostiques et il n'y a pas eu de complications rapportées (Hernandez-

Divers et al., 2007). Dans une étude chez la tortue de Floride, une technique semblable a été utilisée pour effectuer des biopsies hépatiques et rénales (Divers, Stahl, et al., 2010). Les conclusions de l'étude étaient similaires et les échantillons récoltés permettaient une bonne évaluation histologique. Chez le dragon barbu, la coelioscopie permet une bonne visualisation du foie autant par l'approche latérale gauche que l'approche ventrale du coelome (Frei et al., 2020). Toutefois, la biopsie hépatique n'a pas été évaluée dans les études à ce jour.

### **5.3. Évaluation de la présence de saignements gastro-intestinaux**

Chez les mammifères, un test de sang occulte fécal est souvent utilisé pour évaluer la présence de saignements gastro-intestinaux dans les selles. Ces tests sont peu dispendieux, ils sont faciles et rapides à utiliser, mais ils ont une spécificité et une sensibilité variables. Un diagnostic concluant de saignements gastro-intestinaux avec ces tests dépend du site de la lésion, du volume de sang perdu, de la diète et de la précision du test (Gibbons et al., 2006). Plusieurs tests existent, dont le test à base de gaïac, de tétraméthylbenzidine ou de o-tolidine (Gibbons et al., 2006; Rice & Ihle, 1994; Tuffli et al., 2001). Ces tests chromogènes détectent l'activité peroxydase de l'hème de l'hémoglobine et indiquent un résultat positif lorsque la bandelette change de couleur. Cependant, il peut y avoir des faux positifs en réagissant avec la peroxydase provenant de sources alimentaires, comme certains fruits et légumes, ainsi que la viande rouge. Un délai de trois jours minimum entre l'application des selles sur le papier au gaïac et le développement du test Hémocult Sensa® avec une goutte de solution permet la dégradation de la peroxydase végétale et d'éviter les faux positifs (Rozen et al., 1999; Sinatra et al., 1999). Une quantité élevée d'acide ascorbique présent dans les fruits peut causer des faux négatifs. Ainsi, chez les chiens et les chats, il est conseillé de contrôler la diète durant trois jours avant de récolter des selles pour effectuer le test (Gibbons et al., 2006; Rice & Ihle, 1994; Tuffli et al., 2001). Un problème supplémentaire lors de l'utilisation de ce test chez les oiseaux est la présence d'un cloaque où convergent les

voies reproductrices, urinaires et digestives. Les selles peuvent donc être contaminées par du contenu provenant de ces trois systèmes (Gibbons et al., 2006).

#### **5.4. Évaluation de la coagulation sanguine**

L'hémostase dépend de l'intégrité vasculaire, du nombre et de la fonction plaquettaire ainsi que de la coagulation (Harvey, 2012). Un dommage aux parois des vaisseaux sanguins provoque une activation de la formation du clou plaquettaire (hémostase primaire), puis de la coagulation (hémostase secondaire). Les AINS inhibent la voie de l'acide arachidonique, ce qui inhibe le  $\text{TxA}_2$  et donc la fonction plaquettaire. Quelques tests permettent d'évaluer l'hémostase primaire, tels que le comptage plaquettaire, le temps de saignement et les tests de fonction plaquettaire (Harvey, 2012). D'abord, le temps de saignement s'effectue *in vivo* et consiste à effectuer une incision sur la muqueuse buccale et de mesurer le temps écoulé entre le moment de l'incision et l'arrêt des saignements. Ensuite, l'agrégométrie par variation de la transmission lumineuse est considéré comme la méthode de choix pour évaluer la fonction plaquettaire (Whiting et al., 2015). Ce test permet d'évaluer l'agrégation plaquettaire suivant l'ajout de plusieurs agonistes, tels que l'acide arachidonique. Les tests de fonction plaquettaire sont malheureusement peu disponibles en médecine vétérinaire et réalisés dans des laboratoires spécialisés. Les techniques viscoélastiques standards, telles que la thromboélastométrie (ROTEM® Delta, TEM International GmbH, Munich, Germany), la thromboélastographie (TEG® 5000 analyser, Haemonetics Corporation, Niles, IL, USA) ainsi que le Sonoclot (Sonoclot® *coagulation and platelet function analyzer*, Sienco Inc., Arvada, CO, USA) permettent une évaluation globale de l'hémostase et ils ne sont pas sensibles pour évaluer l'effet des médicaments antiplaquettaires sur la fonction plaquettaire (Ranucci & Baryshnikova, 2020; Whiting et al., 2015). Par exemple, le Sonoclot® ne permet pas d'évaluer l'effet des AINS sur la fonction plaquettaire, car ce test n'active pas la voie de l'acide arachidonique. La cartographie plaquettaire est un test spécifique de thromboélastographie (TEG® *Platelet Mapping*, Haemoscope Corporation, Niles, IL, USA) qui peut permettre d'évaluer l'effet

inhibiteur d'agents antiplaquettaires tels que l'aspirine (AINS) ou le clopidogrel (classe des thiéno-pyridines) (Collyer et al., 2009). Ce test évalue l'agrégation plaquettaire en présence de l'acide arachidonique (inhibée par l'aspirine) ou de l'adénosine diphosphate (inhibée par le clopidogrel). Cependant, quelques études ont montré que ce test demeure peu fiable pour évaluer l'effet des agents antiplaquettaires, en comparaison avec d'autres tests plus communément utilisés (ex. : PFA-100®, Dade-Behring, Marburg, Germany) (Ranucci & Baryshnikova, 2020).

Des méthodes plus rudimentaires pour évaluer le temps de coagulation peuvent aussi être utilisées. La méthode du tube capillaire consiste à remplir de sang plusieurs tubes capillaires à microhématocrite non héparinés et les laisser reposer pour leur permettre de coaguler. Un tube est brisé à une certaine fréquence jusqu'à ce qu'un caillot sanguin soit formé, puis le délai entre la collection du sang et la formation d'un caillot est noté. Ce test est rapide, simple et non dispendieux. Cependant, ce test est peu sensible et peu répétable chez les oiseaux, car le résultat varie selon le taux de thromboplastine tissulaire contaminant l'échantillon (Bigland & Starr, 1965). L'utilisation des nouvelles techniques d'analyse de fonction thrombocytaire est maintenant privilégiée.

## **6. Autres médicaments antinociceptifs utilisés chez les reptiles**

### **6.1. Opioïdes**

Les opioïdes sont les médicaments les plus efficaces pour contrôler la douleur (aiguë) chez les mammifères (Giorgi, Salvadori, et al., 2015). Les opioïdes sont classés selon leur affinité pour trois principaux récepteurs : mu ( $\mu$ ), kappa ( $\kappa$ ) ou delta ( $\delta$ ) (Perry & Nevarez, 2018). Les reptiles possèdent ces récepteurs opioïdes dans leur système nerveux central, bien que leur distribution et leur fonction puissent varier selon l'espèce (Mosley, 2011). Plusieurs types d'opioïdes ont été étudiés, tels que les agonistes complets du récepteur opioïde mu (ex. : morphine, hydromorphone, fentanyl), les agonistes partiels du récepteur opioïde mu (ex. : buprénorphine), les médicaments

mixtes agonistes du récepteur opioïde kappa et antagonistes du récepteur opioïde mu (ex. : butorphanol) et les opioïdes atypiques (ex. : tramadol et tapentadol) (Giorgi, Salvadori, et al., 2015). L'effet des opioïdes peut être reversé avec de la naloxone, du naltrexone ou du nalmefene (Epstein, 2015). Chez les mammifères, les opioïdes peuvent produire des effets adverses variés, tels qu'une sédation, une dysphorie, une bradycardie, une dépression respiratoire, des vomissements, de la constipation et une rétention urinaire (Epstein, 2015). Les opioïdes semblent généralement sécuritaires chez les reptiles et produisent des effets adverses légers lorsqu'administrés aux doses cliniques recommandées (Mosley, 2015). Cependant, leur effet antinociceptif est très variable selon l'espèce de reptile, la molécule administrée et le modèle expérimental utilisé. En effet, il a été démontré à plusieurs reprises que certains opioïdes (ex. : morphine) produisent une antinociception chez les lézards et les chéloniens, mais les études effectuées chez les serpents ont donné des résultats inconstants. Les principales études évaluant l'effet antinociceptif des opioïdes chez les reptiles seront décrites ci-dessous, puis résumées dans le Tableau 2 (p.76).

Sladky et al. (2009) ont évalué l'effet antinociceptif lié à l'activation spécifique d'un récepteur opioïde mu, kappa ou delta chez la tortue de Floride. L'administration sous-cutanée d'un agoniste spécifique du récepteur mu a causé une augmentation significative du temps de retrait d'un membre pelvien en réponse à un stimulus thermique. Toutefois, les agonistes spécifiques des récepteurs kappa n'ont pas eu d'effet antinociceptif thermique. De plus, l'administration d'une dose élevée d'un agoniste spécifique du récepteur delta a significativement augmenté le temps de retrait. Cependant, l'administration d'une dose plus faible de ce même médicament ainsi que celle d'un autre médicament agoniste du récepteur delta n'ont pas eu d'effet antinociceptif. Ainsi, les auteurs concluent que l'antinociception thermique liée à l'activation du récepteur opioïde delta varie selon le médicament ainsi que la dose utilisés (Sladky et al., 2009).

### 6.1.1. Butorphanol

Le butorphanol est un agoniste du récepteur opioïde kappa et un antagoniste du récepteur opioïde mu. Il permet un effet analgésique léger chez les mammifères disposant de récepteurs kappa (Perry & Nevarez, 2018). Chez les reptiles, plusieurs études ont montré que le butorphanol ne produit pas un effet antinociceptif significatif. D'abord, chez la tortue de Floride, une administration sous-cutanée de 2,8 mg/kg et 28 mg/kg de butorphanol n'a pas modifié le temps de retrait en réponse à un stimulus thermique, une à 24 heures après l'injection. De plus, l'administration de 28 mg/kg de butorphanol a causé une faible dépression respiratoire une à deux heures suivant l'injection (Sladky et al., 2007). Des résultats similaires ont été rapportés chez le dragon barbu, car l'administration intramusculaire de 2 ou 20 mg/kg de butorphanol n'a pas modifié le temps de retrait en réponse à un stimulus thermique deux à 24 heures après l'injection (Sladky et al., 2008). Chez l'iguane vert, l'injection intramusculaire de 1 mg/kg de butorphanol n'a pas significativement modifié la température induisant une réponse jusqu'à huit heures suivant l'administration (Fleming & Robertson, 2012). Aussi, le butorphanol (1 mg/kg intramusculaire) n'a pas permis de réduire la concentration alvéolaire minimale de l'isoflurane chez l'iguane vert (Mosley et al., 2003). Chez le tégu noir et blanc (*Salvator marianae*), le temps de retrait des membres pelviens en réponse à un stimulus thermique n'était pas significativement différent, comparativement aux valeurs basales, suivant l'administration intramusculaire de 5 mg/kg ou 10 mg/kg de butorphanol (Leal et al., 2017). Des pythons royaux ont reçu une injection de butorphanol (5 mg/kg intramusculaire) avant le cathétérisme de l'artère vertébrale; une chirurgie provoquant un stimulus mécanique. Aucune différence significative au niveau du rythme cardiaque, de la pression sanguine ou de la concentration en certaines hormones de stress n'a été notée comparativement au groupe contrôle (Olesen et al., 2008). Ainsi, cette étude suggère que le butorphanol n'a pas diminué la réponse physiologique induite par la chirurgie et qu'il ne produit pas d'effet analgésique à la dose testée chez cette espèce. Williams et al. (2016) ont montré que l'injection sous-cutanée de capsaïcine a significativement augmenté la fréquence cardiaque des pythons

royaux. Cependant, l'administration intramusculaire de 10 mg/kg de butorphanol, sept heures avant la stimulation nociceptive, n'a pas permis d'inhiber la tachycardie induite par la capsaïcine. Une sédation profonde a toutefois été notée.

À l'opposé, des études suggèrent que certaines doses de butorphanol chez certaines espèces pourraient produire un effet antinociceptif. Premièrement, l'intensité des réactions motrices (mouvements de la tête, du corps et de la queue) en réponse à un stimulus électrique appliqué à la queue des iguanes verts était réduite après l'administration intramusculaire de 1,5 et 8,0 mg/kg de butorphanol (Greenacre et al., 2006). Les résultats sont toutefois inconstants puisque la dose de 4,0 mg/kg n'a pas réduit significativement l'intensité des réactions motrices. Tel que mentionné précédemment, la stimulation électrique est un modèle controversé pour évaluer l'effet analgésique d'un médicament. Deuxièmement, chez le serpent des blés (*Pantherophis guttatus*), une dose très élevée (20 mg/kg intramusculaire) de butorphanol a augmenté le temps de retrait de la queue en réponse à un stimulus thermique huit heures après l'administration (Sladky et al., 2008). Le temps de retrait était toutefois très variable chez le serpent des blés, ne permettant pas aux auteurs de tirer une conclusion définitive. De plus, cette dose élevée n'est pas recommandée en clinique puisque des mortalités ont été rapportées suite à son administration chez des serpents débilités (Sladky, 2014).

Selon les données actuelles, le butorphanol pourrait potentiellement produire un certain effet antinociceptif à des doses très élevées, mais il est difficile de différencier une sédation profonde d'une antinociception à de telles doses. Globalement, l'effet antinociceptif du butorphanol demeure douteux chez les reptiles et davantage d'études sont nécessaires.

### 6.1.2. Morphine

Les agonistes complets du récepteur opioïde mu (ex. : morphine, hydromorphone, fentanyl, etc.) produiraient le meilleur effet antinociceptif central chez les mammifères et les reptiles selon les données actuelles (Epstein et al., 2015; Perry & Nevarez, 2018).

D'abord, chez le dragon barbu, il y avait une augmentation significative du temps de retrait en réponse à un stimulus thermique huit heures après l'administration de 10 mg/kg et 20 mg/kg de morphine par voie intramusculaire (Sladky et al., 2008). Une autre étude chez le dragon barbu a montré que le seuil thermique a significativement augmenté suivant l'administration de morphine (10 mg/kg intramusculaire) (Couture et al., 2017). De plus, l'administration de morphine (5 mg/kg intrapéritonéale) a significativement augmenté le temps de retrait de la queue chez l'anoie vert (*Anolis carolinensis*) (Mauk et al., 1981). Puis, l'intensité des réactions motrices des iguanes verts, en réponse à un stimulus électrique, était réduite après l'administration intramusculaire de morphine à 1 mg/kg (Greenacre et al., 2006). Ensuite, chez le tégu noir et blanc, le temps de retrait en réponse à un stimulus thermique était significativement augmenté comparativement aux valeurs basales jusqu'à 12 heures suivant l'administration de 5 ou 10 mg/kg de morphine intramusculaire (Leal et al., 2017). Finalement, l'administration neuraxiale (NA) sacrococcygienne de morphine a induit une antinociception régionale chez le dragon barbu. En effet, l'administration combinée de morphine (0,5 mg/kg) et de lidocaïne (2 mg/kg) a significativement augmenté le temps de trait des membres pelviens en réponse à un stimulus thermique durant 12 heures, comparativement au groupe ayant reçu de la lidocaïne seulement (Fink et al., 2022). Ainsi, ces différentes études supportent l'hypothèse que les agonistes des récepteurs opioïdes mu permettent un effet antinociceptif chez les lézards.

Ensuite, chez la tortue de Floride, une administration sous-cutanée de 1,5 mg/kg et 6,5 mg/kg de morphine a significativement augmenté le temps de retrait en réponse à un stimulus thermique huit heures après l'injection. L'administration de 1,5 mg/kg de

morphine a causé une dépression respiratoire marquée durant quatre heures (Sladky et al., 2007). Chez la tortue *Kinixys spekii*, l'administration sous-cutanée de formol (12,5%; 100 µL) dans l'espace entre les griffes a provoqué une réponse nociceptive monophasique conduisant à la rétraction du membre pelvien dans la carapace durant 16 minutes en moyenne. Puis, l'administration intracœlomique (IC) de morphine (7,5, 10 et 20 mg/kg) a significativement diminué la durée du retrait du membre suivant l'injection de formol (Wambugu et al., 2010). Aussi, l'administration concomitante de naloxone (5 mg/kg) et de morphine (10 mg/kg) a significativement inhibé l'effet de la morphine administrée seule, indiquant que cet antagoniste est efficace chez cette espèce.

Puis, l'administration intramusculaire de 10 mg/kg de morphine à des pythons royaux, sept heures avant la stimulation nociceptive chimique, n'a pas permis d'inhiber la tachycardie induite par la capsaïcine (Williams et al., 2016). Quelques hypothèses pourraient expliquer ce résultat, telles qu'un faible effet analgésique de ce médicament, un dosage ou une durée d'action inadéquats ou une stimulation nociceptive très élevée. De plus, chez le serpent des blés, une dose intramusculaire de 1, 5, 10, 20 et 40 mg/kg de morphine n'a pas modifié le temps de retrait de la queue en réponse à un stimulus thermique deux à 24 heures suivant l'administration (Sladky et al., 2008). Cependant, la réponse au stimulus thermique était très variable et les auteurs suggèrent qu'une autre étude serait nécessaire pour évaluer l'effet analgésique de la morphine chez cette espèce.

En bref, la durée d'action de la morphine varie considérablement entre les espèces et le délai d'action peut être retardé de deux à huit heures après l'administration (Sladky 2007, Sladky 2008). Quelques études ont démontré que la morphine produit un effet antinociceptif chez plusieurs espèces de lézards et de chéloniens et que celle-ci peut causer une dépression respiratoire.

### 6.1.3. Hydromorphone

L'hydromorphone est un agoniste complet du récepteur opioïde mu et il produit des effets similaires à la morphine (Mans et al., 2012). Une étude pharmacocinétique chez le dragon barbu a démontré qu'une dose de 0,5 mg/kg administrée par voie sous-cutanée permettait d'atteindre une concentration plasmatique considérée analgésique chez le chien durant 24 heures (Hawkins et al., 2019). La dose de 1 mg/kg a toutefois causé de la sédation durant 1 heure chez cette espèce. Chez la tortue de Floride, la dose recommandée d'hydromorphone est 0,5 mg/kg par voie sous-cutanée, administrée aux 12 à 24 heures (Hawkins et al., 2019). De plus, l'administration d'hydromorphone (0,5 mg/kg SC) à des tortues de Floride a significativement augmenté le temps de retrait des membres pelviens en réponse à un stimulus thermique, comparativement au groupe saline, durant 24 heures (Mans et al., 2012).

### 6.1.4. Tramadol

Le tramadol est un opioïde atypique qui agit comme un agoniste du récepteur opioïde mu ainsi qu'en inhibant la recapture de la sérotonine et de la norépinéphrine (Perry & Nevarez, 2018). Son effet analgésique chez les mammifères demeure controversé (Giorgi, Salvadori, et al., 2015). Bien que le nombre d'études évaluant les effets de cette molécule soit limité, ce médicament semble permettre une antinociception efficace chez les reptiles. Le tramadol est transformé par le foie en son métabolite actif, soit le O-desméthyltramadol, qui a une affinité 200 fois plus élevée pour le récepteur mu que sa forme primaire. Ainsi, le tramadol est considéré comme ayant un effet analgésique adéquat seulement chez les espèces pouvant convertir la forme primaire en O-desméthyltramadol (Perry & Nevarez, 2018).

Une étude pharmacocinétique du tramadol et de son métabolite, le O-desméthyltramadol, a été effectuée chez la tortue caouanne (Norton et al., 2015). Suivant l'administration de 5 mg/kg et 10 mg/kg par voie orale, la demi-vie du tramadol

était de 20,35 et 22,67 heures, et celle de son métabolite était de 10,23 et 11,26 heures, respectivement. Chez les mammifères, une concentration sanguine en tramadol et en O-desméthyltramadol supérieure à 100 ng/mL est considérée analgésique (Norton et al., 2015). Dans cette étude, la concentration sanguine en tramadol et en O-desméthyltramadol était supérieure à 100 ng/mL durant 48 heures pour la dose de 5 mg/kg et durant 72 heures pour la dose de 10 mg/kg. La longue demi-vie du tramadol et de son métabolite, observée chez la tortue caouanne, suggère que ce médicament devrait être administré moins fréquemment que chez les mammifères et les oiseaux. Aucune évidence de sédation ou de changement dans le niveau d'appétit ou d'activité n'a été notée chez les tortues caouannes durant l'étude (Norton et al., 2015).

Chez la tortue de Floride, il y avait une augmentation significative du temps de retrait des membres pelviens en réponse à un stimulus thermique, six à 96 heures suivant l'administration orale de 10 mg/kg et 25 mg/kg de tramadol, et 12 et 24 heures suivant la dose de 5 mg/kg (Baker et al., 2011). De plus, une diminution de la ventilation a été notée durant 72 heures suivant l'administration des doses de 10 mg/kg et 25 mg/kg. La dose de 5 mg/kg n'a toutefois pas modifié la ventilation. Comparativement à la voie orale, l'administration sous-cutanée de tramadol aux mêmes doses a causé un temps de retrait plus bas, un délai d'action plus lent et une durée d'action plus courte. En résumé, les auteurs suggèrent que l'administration par voie orale de 5 à 10 mg/kg de tramadol permettrait un effet analgésique adéquat tout en limitant la dépression respiratoire chez la tortue de Floride. En effet, la dose de 1 mg/kg ne permettait pas un effet analgésique efficace et la dose de 25 mg/kg menait à une flaccidité du cou et des membres chez certains individus et à une dépression respiratoire sévère (Baker et al., 2011).

Giorgi, Salvadori, et al. (2015) ont évalué la pharmacocinétique et la pharmacodynamie du tramadol administré à 10 mg/kg par voie intramusculaire via deux sites différents chez la tortue de Floride. La courbe pharmacocinétique du tramadol, lors de

l'administration dans les membres pelviens comparativement aux membres thoraciques, était différente durant les deux premières heures, mais se chevauchait ensuite durant la phase d'élimination. Aussi, le métabolite actif O-desméthyltramadol présentait une pharmacocinétique semblable dans les deux groupes, mais sa concentration maximale moyenne était significativement plus élevée (20%) lors de l'administration dans les membres pelviens que les membres thoraciques. Une hypothèse est que le sang de la partie caudale du corps des tortues draine principalement via les veines abdominales dans le foie, ce qui augmente le métabolisme du médicament (Holz et al., 1997). De plus, les tortues présentaient une augmentation significative du temps de retrait en réponse à un stimulus thermique durant 0,5 à 48 heures suivant l'administration dans les membres pelviens et de huit à 48 heures via les membres thoraciques. Dans les deux groupes, l'effet maximal était noté après 24h (Giorgi, Salvadori, et al., 2015).

Holz et al. (1997) ont montré que le système porte rénal chez les reptiles affecte seulement la pharmacocinétique des médicaments qui sont excrétés par voie tubulaire, et non ceux éliminés par filtration glomérulaire. En effet, le sang porte rénal pénètre les capillaires entourant les tubules, puis il est dirigé vers la veine cave et le cœur. Cependant, il ne perfuse pas les glomérules (Holz et al., 1997). Le tramadol est excrété principalement par filtration glomérulaire chez les mammifères et il est donc suggéré que la route d'élimination est semblable chez les tortues. Cette hypothèse pourrait expliquer pourquoi le système porte rénal ne semble pas avoir affecté l'excrétion du tramadol administré dans les membres pelviens des tortues de Floride (Giorgi, Salvadori, et al., 2015).

En résumé, les résultats des études évaluant les effets du tramadol suggèrent que ce médicament pourrait avoir un effet antinociceptif à longue durée d'action et que le O-desméthyltramadol est présent chez les chéloniens.

### 6.1.5. Autres opioïdes

La buprénorphine est un agoniste partiel du récepteur opioïde mu et présente un délai d'action plus lent que les autres opioïdes (Epstein, 2015). Chez l'iguane vert, la buprénorphine (0,02 et 0,1 mg/kg IM) n'a pas significativement réduit l'intensité des réactions motrices en réponse à une électrostimulation de la queue 30 minutes après son administration (Greenacre et al., 2006). Cependant, ces résultats pourraient être erronés puisque le délai d'action retardé de la buprénorphine n'a pas été pris en compte. Puis, chez la tortue de Floride, l'administration de buprénorphine (0,1, 0,2 et 1,0 mg/kg SC) n'a pas significativement augmenté le temps de retrait des membres pelviens en réponse à un stimulus thermique de trois à 96 heures suivant l'injection (Mans et al., 2012). Ensuite, une étude pharmacocinétique suggère qu'une administration sous-cutanée dans les membres thoraciques de 0,075 à 1 mg/kg de buprénorphine permettrait d'atteindre une concentration plasmatique considérée efficace chez les humains durant 24 heures chez 90% des tortues de Floride (Kummrow et al., 2008). Cependant, la concentration plasmatique efficace n'a pas encore été déterminée chez une espèce de reptile. Cette étude a aussi permis d'observer que la concentration plasmatique maximale était inférieure lors de l'administration dans les membres pelviens comparativement aux membres thoraciques. Ces résultats suggèrent donc que la buprénorphine subit un effet de premier passage hépatique. De plus, une augmentation de la concentration plasmatique a été notée 72 heures suivant l'administration dans les membres pelviens, suggérant une recirculation entéro-hépatique de ce médicament (Kummrow et al., 2008). En résumé, selon les données actuelles, la buprénorphine n'est pas un médicament antinociceptif efficace chez les reptiles.

Le fentanyl est également un agoniste complet du récepteur opioïde mu et il peut être administré par infusion intraveineuse ou par voie transdermique (TD) chez les reptiles (Perry & Nevarez, 2018). L'application d'un timbre transdermique de fentanyl (2,5 µg/h) à des scinques à queue préhensile (*Corubia zebrata*) a permis d'atteindre une

concentration sérique considérée analgésique chez les humains (Gamble, 2008). Puis, chez le python royal, l'application d'un timbre transdermique de fentanyl (3 ou 12 µg/h) n'a pas augmenté significativement le temps de retrait thermique. La dose élevée (12 µg/h) a cependant permis d'atteindre une concentration plasmatique élevée et a causé une diminution significative de la fréquence respiratoire durant 48 heures (Kharbush et al., 2017). L'utilisation adéquate de ce médicament peut être plus difficile chez les reptiles étant donné que les températures ambiante et de la peau peuvent modifier la libération et l'absorption du fentanyl (Ashburn et al., 2003).

La péthidine (ou mépéridine) est également un agoniste complet du récepteur opioïde mu. Chez la tortue *Kinixys spekii*, l'administration intracœlomique de péthidine (20 et 50 mg/kg) a significativement diminué la durée de la rétraction du membre pelvien à l'intérieur de la carapace suivant l'injection sous-cutanée de formol dans l'espace entre les griffes (Wambugu et al., 2010).

Le tapentadol est un opioïde atypique qui agit comme un agoniste du récepteur opioïde mu et un inhibiteur de la recapture de norépinéphrine (Giorgi, Lee, et al., 2015). Chez la tortue de Floride, le tapentadol (5 mg/kg intramusculaire) a augmenté significativement le temps de retrait d'un membre pelvien lors de l'application d'un stimulus thermique à la surface plantaire, une à 10 heures suivant l'administration (Giorgi, Lee, et al., 2015). De plus, il y avait une corrélation linéaire entre la concentration plasmatique de tapentadol et l'effet antinociceptif observé. Aussi, des signes de sédation, tels que la flaccidité du cou et des membres, ont été observés une à deux heures suivant l'administration du médicament.

Des recherches supplémentaires sur l'hydromorphone, le fentanyl, la péthidine et le tapentadol sont nécessaires afin de tirer des conclusions quant à leurs effets antinociceptifs.

En résumé, plusieurs opioïdes ont été étudiés chez quelques espèces et ont engendré des résultats variables. Il est possible que ces variations soient associées à des différences d'espèces dans l'expression des différents types de récepteurs opioïdes (Sladky et al., 2009). Pour l'instant, les agonistes des récepteurs opioïdes mu semblent les plus efficaces pour réduire la réponse nociceptive chez les lézards et les chéloniens, mais une dépression respiratoire et une sédation ont aussi été notées.

**Tableau 2.** Résumé des principales études évaluant l'effet analgésique des opioïdes chez les reptiles.

Opioides	Espèces	Doses (mg/kg)	Voies	Commentaires	Références
Butorphanol	Dragon barbu	2,0-20,0	IM	Pas d'effet analgésique	(Sladky et al., 2008)
	Tégu noir et blanc	5,0-10,0	IM	Pas d'effet analgésique	(Leal et al., 2017)
	Iguane vert	1,0	IM	Pas d'effet analgésique	(Fleming & Robertson, 2012; Mosley et al., 2003)
	Iguane vert	0,4-8,0	IM	Possible effet analgésique $\geq 1,5$ mg/kg; résultats inconstants	(Greenacre et al., 2006)
	Tortue de Floride	2,8-28,0	SC	Pas d'effet analgésique; dépression respiratoire à 28,0 mg/kg	(Sladky et al., 2007)
	Python royal	5,0	IM	Pas d'effet analgésique	(Olesen et al., 2008)
	Python royal	10,0	IM	Pas d'effet analgésique; effet sédatif	(Williams et al., 2016)
	Serpent des blés	2,0-20,0	IM	Possible effet analgésique $\geq 20,0$ mg/kg; résultats inconstants	(Sladky et al., 2008)
Morphine	Dragon barbu	1,0-20,0	IM	Effet analgésique $\geq 10$ mg/kg	(Sladky et al., 2008)
	Dragon barbu	10,0	IM	Effet analgésique	(Couture et al., 2017)

	Dragon barbu	0,5	NA	Effet analgésique	(Fink et al., 2022)
	Tégu noir et blanc	5,0-10,0	IM	Effet analgésique	(Leal et al., 2017)
	Anole vert	5,0	IP	Effet analgésique	(Mauk et al., 1981)
	Iguane vert	0,4-1,0	IM	Effet analgésique à 1,0 mg/kg	(Greenacre et al., 2006)
	Tortue de Floride	1,5-6,5	SC	Effet analgésique; dépression respiratoire	(Sladky et al., 2007)
	Tortue <i>Kinixys spekii</i>	5,0-20	IC	Effet analgésique $\geq$ 7,5 mg/kg	(Wambugu et al., 2010)
	Python royal	10,0	IM	Pas d'effet analgésique	(Williams et al., 2016)
	Serpent des blés	1,0-40,0	IM	Pas d'effet analgésique; résultats inconstants	(Sladky et al., 2008)
Hydromorphone	Dragon barbu	0,5-1,0	SC	Concentration plasmatique considérée analgésique chez le chien; effet sédatif à 1 mg/kg	(Hawkins et al., 2019)
	Tortue de Floride	0,5-1,0	SC	Concentration plasmatique considérée analgésique chez le chien	(Hawkins et al., 2019)
	Tortue de Floride	0,5	SC	Effet analgésique	(Mans et al., 2012)
Tramadol	Tortue de Floride	1,0-25,0	PO	5-10 mg/kg PO est recommandé pour avoir un effet analgésique tout en limitant la dépression	(Baker et al., 2011)
		10,0-25,0	SC		

				respiratoire	
	Tortue de Floride	10,0	IM	Effet analgésique	(Giorgi, Lee, et al., 2015)
	Tortue caouanne	5,0-10,0	PO	Concentration plasmatique considérée analgésique chez le chien	(Norton et al., 2015)
Buprénorphine	Iguane vert	0,02-0,1	IM	Pas d'effet analgésique	(Greenacre et al., 2006)
	Tortue de Floride	0,1-1,0	SC	Pas d'effet analgésique	(Mans et al., 2012)
	Tortue de Floride	0,075-1,0	SC	Concentration plasmatique considérée analgésique chez l'humain	(Kummrow et al., 2008)
Fentanyl	Scinque à queue préhensile	2,5 µg/h	TD	Concentration plasmatique considérée analgésique chez l'humain	(Gamble, 2008)
	Python royal	3,0-12,0 µg/h	TD	Pas d'effet analgésique; dépression respiratoire à 12,0 µg/h	(Kharbush et al., 2017)
Péthidine (mépéridine)	Tortue <i>Kinixys spekii</i>	10,0-50,0	IC	Effet analgésique ≥ 20,0 mg/kg	(Wambugu et al., 2010)
Tapentadol	Tortue de Floride	5,0	IM	Effet analgésique; effet sédatif	(Giorgi, Lee, et al., 2015)

## 6.2 Anesthésiques locaux

Les anesthésiques locaux les plus utilisés incluent la lidocaïne, la bupivacaïne et la mépivacaïne (Perry & Nevarez, 2018). Ils procurent une analgésie en inhibant la conduction nerveuse périphérique, ce qui empêche la transmission du stimulus nociceptif au système nerveux central (Chatigny et al., 2017). Ces médicaments ont peu été étudiés chez les reptiles, mais il est suggéré qu'ils produisent un effet similaire à celui noté chez les mammifères puisque le mécanisme d'action des neurones est conservé chez les vertébrés (Perry & Nevarez, 2018). Les anesthésiques locaux ont l'avantage de produire très peu d'effets systémiques lorsqu'ils sont utilisés aux doses recommandées (Wellehan et al., 2006). Toutefois, des précautions doivent être prises pour éviter un surdosage accidentel, particulièrement chez les individus de petite taille. Au même titre que chez les mammifères, il est suggéré que la dose administrée ne doit pas dépasser 10 mg/kg pour la lidocaïne, 5 mg/kg pour la bupivacaïne et 25 mg/kg pour la mépivacaïne (Whiteside, 2014). Les anesthésiques locaux sont utilisés en combinaison avec d'autres médicaments analgésiques et anesthésiques lors de procédures chirurgicales et ils permettent de réduire la dose nécessaire de ces derniers (Wellehan et al., 2006). Chez les reptiles, les anesthésiques locaux sont utilisés pour des procédures chirurgicales, l'intubation endotrachéale, désensibiliser la région cloacale (ex. : correction de prolapsus) et des blocs dentaires et spinaux (Chatigny et al., 2017; Fink et al., 2022; Spadola et al., 2015). Par exemple, le blocage du nerf mandibulaire à l'aide de mépivacaïne 2% a produit une désensibilisation de l'arcade dentaire chez les crocodiliens (Wellehan et al., 2006). Aussi, chez la tortue boîte à bords jaunes (*Cuora flavomarginata*), l'administration seule de lidocaïne sous-cutanée dans la fosse préfémorale ne produisait pas un effet analgésique suffisant pour effectuer une coelioscopie. Les auteurs suggèrent donc que cette procédure doit être effectuée sous anesthésie générale en combinaison avec un anesthésique local (Hernandez-Divers et al., 2009). De plus, chez la tortue de Floride, l'administration intrathécale au niveau des vertèbres coccygiennes de lidocaïne (4 mg/kg) ou de bupivacaïne (1 mg/kg) a induit une anesthésie régionale de la queue, du cloaque et des membres pelviens durant environ

une et deux heures, respectivement (Mans, 2014). Cette technique a été utilisée seule pour effectuer la phallectomie de 15 tortues des Galápagos (Rivera et al., 2011). Finalement, chez le dragon barbu, l'administration neuraxiale sacrococcygienne de lidocaïne (2 mg/kg) ou de bupivacaïne (1 mg/kg) a induit une anesthésie régionale du cloaque, des membres pelviens et de la partie caudale du tronc durant environ une à deux heures (Ferreira et al., 2021; Ferreira & Mans, 2019).

### **6.3 Agonistes $\alpha$ 2-adrénergiques**

Les agonistes des récepteurs adrénergiques  $\alpha$ 2 sont communément utilisés en médecine vétérinaire et ils ont un effet sédatif, analgésique et relaxant musculaire (Pypendop, 2015). Ils peuvent produire des effets indésirables tels qu'une bradycardie, une dépression respiratoire, des vomissements, une hypomotilité gastro-intestinale et une augmentation de la production d'urine (Pypendop, 2015). Étant donné que ces médicaments causent une sédation, il peut être complexe d'évaluer si ceux-ci ont un effet analgésique. Chez les reptiles, quelques études ont évalué l'effet sédatif et antinociceptif de la médétomidine, de la dexmédétomidine et de la clonidine.

D'abord, chez le python royal, la dexmédétomidine (0,1 et 0,2 mg/kg sous-cutanée) a significativement augmenté le temps de retrait en réponse à un stimulus nociceptif thermique 15 minutes à huit heures après administration (Bunke et al., 2018). Aussi, l'injection sous-cutanée de 0,1 mg/kg de dexmédétomidine a causé une diminution significative de la fréquence respiratoire durant 24 heures, mais celle-ci demeurait dans les valeurs normales. Il n'y avait pas de différence significative dans le score des quatre comportements évalués (mouvements de langue, recul de la tête à l'approche de la main d'un observateur, mouvements et réflexe de retournement), suggérant que la dexmédétomidine pourrait avoir un effet principalement antinociceptif plutôt que sédatif chez le python royal (Bunke et al., 2018). Suite à ces résultats, une étude a évalué si la combinaison de dexmédétomidine (0,1 mg/kg SC) et de doxapram (10 mg/kg SC) pourrait produire un effet analgésique tout en diminuant la dépression respiratoire

induite par la dexmédétomidine chez le python royal (Karklus et al., 2021). Une chambre de pléthysmographie a permis de confirmer que la dexmédétomidine seule induit une augmentation du volume tidal, une diminution de la fréquence respiratoire et un patron respiratoire irrégulier, comparativement aux valeurs basales. À l'opposé, le doxapram seul a induit une augmentation significative de la ventilation, du volume tidal et de la fréquence respiratoire, comparativement au groupe témoin, 60 minutes après son administration. La combinaison des deux médicaments, comparativement aux valeurs basales, a causé une augmentation de la ventilation et du volume tidal 30 à 60 minutes après l'administration, et a permis de maintenir un patron respiratoire régulier et une fréquence respiratoire stable. De plus, une stimulation thermique du tiers crânioventral des pythons, induite par une plaque chauffante, a permis de confirmer que la dexmédétomidine seule ainsi que la combinaison des deux médicaments augmentent significativement le temps de retrait comparativement au groupe saline. En résumé, la dexmédétomidine peut être un analgésique efficace chez les serpents et le doxapram pourrait diminuer la dépression respiratoire induite par cet agoniste  $\alpha_2$ -adrénergique tout en préservant son effet antinociceptif (Karklus et al., 2021).

Il est intéressant de noter que l'effet antinociceptif des opioïdes n'a pas encore été validé chez les serpents, tandis que les deux études ci-haut suggèrent que la dexmédétomidine semble avoir un effet antinociceptif chez le python royal.

Une étude chez le tégu noir et blanc a évalué durant 24 heures l'effet sédatif et antinociceptif de la dexmédétomidine (0,2 mg/kg IM) ainsi que du midazolam, un sédatif qui ne produit pas d'analgésie (Bisetto et al., 2018). Le niveau de sédation était évalué à l'aide d'une échelle descriptive de plusieurs comportements, tels que la résistance à la contention manuelle, la posture, le réflexe de retournement d'un membre thoracique, la réponse à un stimulus mécanique en pinçant un doigt avec une pince hémostatique, puis le réflexe de retournement du corps. L'antinociception était évaluée en mesurant le temps de retrait d'un membre thoracique lors de l'application

d'un stimulus thermique à la surface palmaire. La dexmédétomidine a significativement causé une diminution de la fréquence cardiaque durant six heures et de la fréquence respiratoire durant quatre heures. Étonnamment, la dexmédétomidine n'a pas induit de sédation, mais des changements de comportements ont été observés durant trois heures chez tous les tégus (n = 6), tels qu'une augmentation de l'agressivité et des pics d'activité lors des contentions manuelles. La dexmédétomidine a induit un effet antinociceptif en augmentant significativement le temps de retrait en réponse à un stimulus thermique durant 12 heures. De plus, la réponse au stimulus mécanique était absente chez 3/6 individus tandis que le réflexe de retournement était immédiat chez tous les tégus. À l'opposé, le midazolam a causé une sédation légère à modérée, mais pas d'effet antinociceptif, indiquant que les méthodes utilisées pour évaluer la sédation et l'antinociception étaient appropriées dans cette étude. En bref, la dexmédétomidine pourrait être antinociceptive chez le tégu (Bisetto et al., 2018). Cependant, l'effet sédatif des agonistes  $\alpha$ 2-adrénergiques semble varier selon l'espèce de reptile (Sleeman & Gaynor, 2000).

Ensuite, l'administration intrathécale de clonidine caudalement au processus occipital chez la tortue à cou caché d'Afrique (*Pelomedusa subrufa*) (37,5 et 65  $\mu$ g/kg) et la tortue *Kinixys spekii* (40  $\mu$ g/kg) a significativement diminué un comportement lié à de la douleur, soit la durée de la rétraction du membre à l'intérieur de la carapace après l'injection de formol entre les doigts (Makau et al., 2014, 2017). Le niveau d'activité des tortues dans leur cage ainsi que la tension musculaire n'étaient pas différents jusqu'à une heure suivant l'administration du médicament, ce qui suggère qu'il n'y avait pas d'effet sédatif. La clonidine aurait donc un effet antinociceptif en inhibant la transmission nociceptive spinale chez ces deux espèces de tortues.

#### **6.4. Kétamine**

La kétamine est un antagoniste du récepteur N-méthyl-D-aspartate. C'est un agent anesthésique dissociatif; il réduit la sensibilisation centrale (effet anti-hyperalgésique) et

active l'action nerveuse inhibitrice descendante (effet antinociceptif). La kétamine permet de diminuer la dose nécessaire d'opioïdes lorsqu'il est utilisé dans un protocole analgésique multimodal chez les mammifères. Il augmente aussi le niveau de sédation lorsqu'il est utilisé en combinaison avec d'autres agents sédatifs (Gaynor & Muir, 2015). Quelques études ont montré que la kétamine permet un effet sédatif chez les reptiles (Barrillot et al., 2018; Kleinschmidt et al., 2018; Schumacher et al., 1997). Bien que certaines études aient évalué l'effet antinociceptif de combinaisons d'agents anesthésiques chez les reptiles (Eshar et al., 2021; Monticelli et al., 2019), l'effet analgésique de la kétamine seule n'a pas encore été étudié.

## **6.5. Analgésie multimodale**

L'analgésie multimodale consiste à administrer simultanément deux médicaments analgésiques ou plus appartenant à des classes distinctes et qui ont des mécanismes d'action différents. Cette approche permet une analgésie plus complète puisque chaque molécule agit différemment sur les processus physiologiques de la douleur : la transduction, la transmission, la modulation et la perception (Fox, 2014). Les dosages de chaque médicament peuvent généralement être réduits s'ils ont un effet additif ou synergique lorsqu'ils sont administrés ensemble. Par exemple, la combinaison d'opioïdes et d'AINS est communément utilisée en médecine humaine et vétérinaire afin de procurer une analgésie multimodale. De plus, les anesthésiques/analgésiques locaux et régionaux sont souvent utilisés en combinaison avec des opioïdes, des agonistes  $\alpha 2$ -adrénergiques, des antagonistes N-méthyl-D-aspartate et des AINS lors de procédures chirurgicales (Fox, 2014). Aucune étude chez les reptiles, démontrant que la combinaison d'analgésiques augmente leur efficacité, n'a toutefois encore été publiée. Néanmoins, au même titre que chez les mammifères, cette approche devrait être utilisée lors de procédures potentiellement douloureuses afin d'optimiser la gestion de la douleur et de l'inflammation chez les reptiles.

## Chapitre 2 – Article scientifique

### **Evaluation of the safety of multiple intramuscular doses of ketoprofen in bearded dragons (*Pogona vitticeps*)**

Journal of Herpetological Medicine and Surgery (2022), 32(2), 123-129.  
<https://doi.org/10.5818/JHMS-D-21-00030>

Annabelle Vigneault, DVM

Stéphane Lair, DVM, DVSc, DACZM

Carolyn Gara-Boivin, DVM, MSc, DACVP

Guy Beauchamp, PhD

Claire Vergneau-Grosset, DVM, IPSAV, CES, DACZM

From the Département de sciences cliniques (Vigneault, Lair, Vergneau-Grosset), and the Département de pathologie et microbiologie (Gara-Boivin, Beauchamp), Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, 3200 rue Sicotte, Saint-Hyacinthe, QC, J2S 2M2, Canada.

#### **Contribution des auteurs**

AV, SF, CGB et CVG ont contribué à la conception du plan de l'étude ainsi qu'à la collecte de données. AV a écrit le brouillon initial de l'article. Tous les auteurs ont participé à l'analyse et l'interprétation des résultats, à la révision de l'article et ont approuvé sa version finale.

## 1. Abstract

Cyclooxygenase (COX) 1 has been shown to increase significantly in inflamed ophidian skin and chelonian muscles. Non-selective COX-1 and COX-2 inhibitors, such as ketoprofen, could therefore reduce inflammation more effectively than preferential COX-2 inhibitors in reptiles. The objective of this study was to evaluate potential adverse effects of ketoprofen in bearded dragons (*Pogona vitticeps*). Thirteen adult bearded dragons were divided into three groups receiving daily intramuscular injections for 14 days in a blinded randomized study design. Group 1 (n = 5) received saline, group 2 (n = 4) received ketoprofen at 2 mg/kg (diluted 1:10 with saline) and group 3 (n = 4) received ketoprofen at 20 mg/kg (undiluted). Biochemical values, fecal occult blood (FOB) tests, and blood clotting time were assessed before and after the two-week treatment. Renal, digestive, hepatic, and muscular histopathology was evaluated. Clinically, injection-site reactions were noted in group 3 only (n = 1/4). No other clinical adverse effects were detected. No changes were detected in plasma biochemical values and clotting times before and after treatments, nor between control and treatment groups. No lesion associated with ketoprofen toxicity was detected on histologic examination of the kidney, liver and gastrointestinal tract. Lesions of muscular necrosis at the injection sites were of higher magnitude in group 3 compared to group 1. In conclusion, daily intramuscular administration of diluted ketoprofen at 2 mg/kg for 14 days did not cause adverse effects in a small number of bearded dragons, whereas severe muscular necrosis was detected at 20 mg/kg.

**Keywords:** analgesia, antinociception, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, pain management, *Pogona vitticeps*, reptile

## 2. Introduction

Bearded dragons are common reptile companion animals frequently presented to veterinary clinics for medical conditions requiring the use of antinociceptive drugs. Among antinociceptive drugs used in veterinary medicine, opioids, nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and alpha-adrenergic agonists are often prescribed (Duncan, 2012). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs inhibit cyclooxygenase (COX) enzymes, which decreases the synthesis of prostanoids including prostaglandins, prostacyclins and thromboxanes. Prostanoid inhibition provides desired peripheral antinociception, anti-inflammatory and antipyretic effects. However, prostanoids have several physiological effects that are essentials for various normal metabolic functions. Consequently, NSAID administration can cause adverse effects in mammals such as a decrease in clotting functions, gastrointestinal ulcers, kidney and liver damage (Budsberg, 2015).

There are two main isoforms of COX enzyme: COX-1 and COX-2. In mammals, preferential and selective COX-2 inhibitor NSAIDs are reported to produce fewer adverse effects than nonselective inhibitors, because COX-1 activity is preserved (Budsberg, 2015). However, this observation has not been documented in veterinary medicine and selective COX-2 inhibitors can also produce adverse effects (Monteiro-Stegall et al., 2013). Depending on the species, COX-1 and COX-2 tissular expression varies, complicating extrapolation of adverse effects of NSAIDs from mammals to reptiles (Grant, 2006). Two studies have evaluated COX-1 and COX-2 expression in reptiles. Cyclooxygenase-1 significantly increased in inflamed muscles of box turtles (*Terrapene carolina carolina*) and in inflamed skin of ball pythons (*Python regius*) (Royal et al., 2012; Sadler et al., 2016). Therefore, non-selective COX inhibitors, such as ketoprofen, might be more effective in controlling inflammation in reptiles than preferential or selective COX-2 inhibitors.

Two pharmacokinetic studies of ketoprofen in reptiles (Thompson et al., 2018; Tuttle et al., 2006) have evaluated the dose of 2 mg/kg once daily. In green iguanas (*Iguana iguana*), a 2 mg/kg IV dose had a half-life of 31 hours, which is longer than in mammals, and the bioavailability when administered IM was 78% (Tuttle et al., 2006). In loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*), efficient plasma concentration in mammals was maintained for 12 to 24 hours after administration of 2 mg/kg IV or IM in a multiple dose study (Thompson et al., 2018). In the same study, six turtles underwent a coelioscopy and received ketoprofen at 2 mg/kg IM once daily for three days. One individual developed anemia that resolved within two weeks. The cause of anemia remained undetermined, but hypotheses included internal hemorrhage following coelioscopy or subcutaneous bleeding caused by repeated venipunctures (Thompson et al., 2018). In another study, eight loggerhead sea turtles received 2 mg/kg IM once daily for five days and no adverse effect was detected (Harms et al., 2021). To our knowledge, no ketoprofen pharmacodynamic study in reptiles have been published thus far. A high dose of ketoprofen (20 mg/kg) was administered to assess potential detrimental side effects of this medication at a higher dosage.

The objective of this study was to evaluate the safety of multiple intramuscular doses of ketoprofen in bearded dragons. The hypothesis was that daily intramuscular administration of ketoprofen at 2 mg/kg would not cause adverse effects while a dose of 20 mg/kg would cause renal, gastrointestinal and hepatic lesions.

### **3. Materials and methods**

#### **Animals and husbandry**

This research project was approved by the Animal Care and Use Committee of the Université de Montréal (19-Rech-2051). Thirteen adult (> one-year old) captive-bred wild-type bearded dragons were acquired, including eight females and five males. Weights ranged from 159 to 530 grams. Bearded dragons were housed individually in

glass terrariums (Exo Terra, Rolf C. Hagen Inc., Montreal, QC, Canada) in a temperature-controlled room at 28°C (82°F). Each terrarium was equipped with an ultraviolet-B-emitting lamp lit for 12 hours a day, providing an optimal temperature gradient from 28°C (82°F) to 33°C (91°F) during the day. The photoperiod was set to provide 12 hours of light and 12 hours of darkness. Paper was used as substrate and a hiding box was provided.

Bearded dragons were fed three times per week with gut-loaded crickets (*Acheta domestica*) and mealworms (*Tenebrio molitor*) dusted with calcium supplement (Exo Terra, Rolf. Hagen Inc.,). A mix of lettuce and carrots dusted with calcium supplement was provided daily and water was provided *ad libitum*. Each bearded dragon received goliath worms (*Manduca sexta*) and a 15-minute bath weekly as enrichment.

During acclimation, complete physical examination, fecal occult blood (FOB) tests (Hemoccult II SENSEA, Beckman Coulter, Brea, CA, USA), and fecal flotation test in zinc sulfate were conducted. Since intestinal parasites (coccidia and pinworms) were detected in some individuals, all bearded dragons were treated with fenbendazole (Panacur, 100 mg/ml, Intervet Canada Corp., Kirkland, QC, Canada) and ponazuril (Marquis, 15% w/w, Merial Canada, Baie d'Urfé, QC, Canada), until fecal tests were negative for all individuals.

### **Study design**

After a three-week acclimation period, the 13 bearded dragons were randomly divided into three groups. They received injections in alternating triceps muscles once daily for 14 days. Operators were blinded to treatment attribution: one operator prepared the drug each day with dragon identification numbers, and two distinct operators administered injections and assessed clinical signs. Group 1 (n = 5) received saline (Sodium Chloride, 0.9%, Baxter, Mississauga, ON, Canada), group 2 (n = 4) received 2 mg/kg of ketoprofen (Anafen, 100 mg/ml, Merial Canada) (diluted 1:10 with saline; i.e.,

one part of ketoprofen solution and 9 parts of saline) and group 3 (n = 4) received 20 mg/kg of ketoprofen (undiluted). The 2 mg/kg dose was diluted to obtain the same volume as the 20 mg/kg dose and the volume of saline was identical (0.03 to 0.11 ml, or 0.2 ml/kg).

A blood sample was obtained from the ventral coccygeal vein of each individual prior to treatment and the day after the last treatment. Packed cell volume was assessed with capillary tubes (18,000 g for 3 min), total solids were measured by refractometry, whole blood clotting time evaluated with capillary tube method (non-heparinized micro-hematocrit capillary tubes, Fisherbrand, Pittsburgh, PA, USA), and a complete plasma biochemistry panel was obtained on heparinized blood. For clotting time evaluation, capillary tubes were broken every 5 minutes up to 45 minutes and the first time point to visual clot detection was recorded, as reported elsewhere (Humble & Glover, 1950; Scanes, 2015). Values above 45 minutes were recorded as nonmeasurable. The biochemistry panel performed at the Faculté de médecine vétérinaire (Unicel DxC 600, Beckman Coulter, Mississauga, ON, Canada) included alkaline phosphatase, aspartate transaminase, bile acids, total calcium, total cholesterol, creatine kinase (CK), glucose, lactate dehydrogenase, N-acetyl-beta-D-glucosaminidase, phosphorus, total proteins, urea and uric acid. Calcium:phosphorus ratio was calculated. In addition, ionized calcium was obtained on a blood gas analyzer (Heska Element POC, Epocal Inc., Ottawa, ON, Canada). Changes in body weight were assessed twice weekly, and appetite, activity, abnormal clinical signs, and food intake were recorded daily. Fecal occult blood tests were performed a minimum of two times a week for each individual, starting on day 2 and as soon as feces were available for testing afterwards. As recommended in product instructions (Hemoccult II SENSEA, Beckman Coulter), FOB tests were developed three days after stool sample application to allow degradation of fruit and vegetable peroxidases and avoid false positive tests. Prey animals such as pinkie mice were not offered because meat can cause false positive tests.

### **Post-mortem examinations**

After the 2-week treatment, bearded dragons were sedated with 2 mg/kg morphine SC (Morphine Sulfate Injection USP, 10 mg/ml, Sandoz Canada, Boucherville, QC, Canada) and 5-15 mg/kg alfaxolone SC (Alfaxan Multidose, 10 mg/ml, Jurox Pty Ltée, Rutherford, NSW, Australia). Lizards were then euthanized with IV injections of 100 mg/kg pentobarbital sodium (Euthanyl, 340 mg/ml, Bimeda-MTC Animal Health, Cambridge, ON, Canada) and 2-4 mEq/kg potassium chloride (Potassium Chloride, 2 mEq/ml, Pfizer Canada, Kirkland, QC, Canada) followed by brain pithing. A complete necropsy was then performed. The entire gastrointestinal system was opened longitudinally and macroscopically examined to detect erosion and ulceration. Tissue samples were fixed in buffered formalin 10% including the heart, lung, liver, stomach, small intestine, colon, kidney, reproductive tract, and skin and muscle at the injection site. Formalin fixed tissues were embedded in paraffin, sectioned at 5- $\mu$ m thickness, and stained with hematoxylin, eosin and safran after being mounted on glass slides. Histopathologic evaluation was blinded to treatment attribution. The presence of gastrointestinal erosions and ulcerations, and renal lesions were assessed for each individual. A semi-quantitative grading system was established to grade vacuolization of hepatocytes, according to the percentage of hepatocytes cytoplasm occupied by lipidic vacuoles. Muscular histologic lesions at the injection sites were classified into 3 grades; grade 1: mild and focal, grade 2: moderate and multifocal, and grade 3: marked and coalescing. Other pathological processes were noted on an individual basis.

### **Statistical analysis**

Statistical analyses were performed using a statistical software (SAS v9.4, SAS Institute, Cary, NC, USA). The Kruskal-Wallis test was used to compare histological findings among groups and post hoc tests were then performed. Multiple comparisons were carried out between pairs of groups using a procedure previously described (Siegel & Castellan, 1998). Linear mixed models were used to compare blood parameters among groups, and before and after treatment, using the group, time and their interaction as fixed factors and dragon identification as random factor. Normality of the residual values

from each model was assessed graphically. For the linear models, pairs of means were compared using the sequential Benjamin-Hochberg procedure to adjust alpha values downward. The level of statistical significance was set at 0.05.

## **4. Results**

During the 2-week treatment period, no changes in appetite, activity or body weight were observed. One individual from the 20 mg/kg treatment group presented stiff triceps muscles and blackish cutaneous lesions at the injection sites.

Five individuals displayed a positive FOB test result during the treatment period. Two out of five individuals of the control group had a positive test, including one diagnosed with a salpingitis and one with an egg yolk coelomitis. Three out of four individuals from the 20 mg/kg treatment group had positive FOB tests, including one diagnosed with an egg yolk coelomitis on necropsy. None of the individuals from the 2 mg/kg treatment group had positive FOB tests.

Plasma concentrations of six biochemistry parameters are presented in Figure 1 (p.99). Packed cell volume, total solids and plasma biochemical parameters were not significantly different before versus after treatment, nor between groups at any time points. Values were generally within normal limits for parameters with known reference intervals in bearded dragons (Ellman, 1997; Tamukai et al., 2011). In particular, uric acid concentration was lower in treated groups when comparing values before and after treatment, and it was lower in treated than in control groups at the end of experiment. Although non-significant, CK median value was higher post treatment in the group receiving 20 mg/kg ketoprofen (see Figure 1, p.99). Whole blood clotting time assessed with capillary tubes was not significantly different before versus after treatment, nor between groups. Clotting time could not be measured in 7 out of 26 tests because values above 45 minutes were recorded as non-measurable due to limited blood volume.

On macroscopic examination, a pale liver was noted in five individuals from the three groups. All individuals had some degree of hepatic lipidosis on histopathology, with lipids estimated to fill 20 to 90% of the cytoplasm of hepatocytes. However, the magnitude of the hepatic lipidosis was not statistically different between groups.

Two out of five individuals from the control group and one out of four individuals from the 2 mg/kg treatment group displayed mild (grade 1) necrosis in the triceps muscles, while moderate (grade 2) lesions of muscular necrosis were present in another individual from the 2 mg/kg treatment group. Histologically, grades 1 and 2 muscular lesions were characterized by focal and respectively multifocal muscular necrosis characterized by the presence of occasional fragmented and coagulated myocytes associated with mild focal to moderate multifocal fibrosis and hemorrhages in the interstitial spaces. All four individuals from the 20 mg/kg treatment group displayed grade 3 lesions. These lesions were associated with large areas of muscular necrosis composed of swollen and hyperacidophilic fragmented and coagulated myocytes associated with an extensive fibrosis of the interstitial spaces with infiltration of numerous heterophils and macrophages (see Figure 2, p.100). The magnitude of the lesions was statistically different among groups ( $P = 0.013$ ) with higher grades in group 3 than in group 1. No gastrointestinal ulcers or erosions were noted at gross necropsy or at histopathologic examination in any individual. No renal lesion suggestive of an acute toxic effect was detected. Chronic mild renal lesions were noted in all three groups, including mesangial thickening, glomerulosclerosis, interstitial fibrosis and cytoplasmic brown pigments in the proximal tubules.

## **5. Discussion**

Based on the parameters evaluated in the present study, the administration of ketoprofen at 2 mg/kg IM diluted 1:10 in saline once daily for 14 days appeared to be

safe in healthy adult bearded dragons. Conversely, a dose of 20 mg/kg IM once daily for 14 days caused adverse effects.

A two-week treatment duration was chosen because metabolism and healing time is slower in reptiles than in mammals, so lizards could presumably benefit from a longer administration of anti-inflammatory drugs (Duncan, 2012). For example, wounds sutured after surgery typically heal within two weeks in mammals compared to four to eight weeks in reptiles (Mader et al., 2006). However, there is currently little evidence to support the dosage, frequency, duration, and route of administration of NSAIDs in reptiles (Divers, Papich, et al., 2010; Lai et al., 2015; Trnkova et al., 2007; Uney et al., 2016).

Only few studies have evaluated adverse effects of NSAIDs in reptiles including one that evaluated ketoprofen safety in loggerhead sea turtles. In this study, eight individuals received 2 mg/kg IM once daily for five days while eight control individuals received saline (Harms et al., 2021). No adverse effects were noted on body weight, clinical appearance, hemostasis assessed with thromboelastography, hematology and plasma biochemistry parameters. There was no statistically significant difference between treatment groups, or before and after treatments. However, necropsies were not conducted in this study and the sensitivity of biochemistry parameters to detect organ lesions may be suboptimal in reptiles (Wilkinson & Divers, 2020). In four green iguanas, daily oral administration of meloxicam at high doses (1 or 5 mg/kg) for 12 days did not cause histological changes in gastric, hepatic and renal tissues (Divers, Papich, et al., 2010). In another study on green iguanas, seven individuals received a daily intramuscular injection for 10 days of carprofen (2 mg/kg) and five individuals received meloxicam (0.2 mg/kg). No changes of clinical importance in haematological and biochemical parameters were noted, and values were within reference limits (Trnkova et al., 2007).

In the present study, the only adverse effect of ketoprofen was the induction of muscular necrosis at the injection sites. Histologically, extensive lesions of muscular necrosis were observed at the injection sites in all individuals of the 20 mg/kg group. Clinically, one individual also displayed stiff triceps muscles and blackish cutaneous coloration suggestive of tissue necrosis. No significant difference in plasma CK concentration was noted among groups, despite significantly different grades of muscular necrosis. This might be due to the low number of individuals included in the study. The mild muscular necrosis observed in the saline and 2 mg/kg groups were presumably associated with the mechanical trauma associated with the insertion of the needle. The marked difference in muscle necrosis observed between the 2 mg/kg and the 20 mg/kg groups might either be a consequence of the actual dose of ketoprofen used or due to the fact that ketoprofen was injected undiluted in the 20 mg/kg group. Even if our study cannot discriminate between these two hypotheses, our results suggest that ketoprofen should be diluted for IM administration regardless of the dose administered pending additional studies addressing this. The Anafen® product label states that ketoprofen pH is adjusted with citric acid, but pH value is not mentioned. Therefore, it remains uncertain whether pH could be responsible for the observed muscular lesions. In birds, intramuscular administration of ketoprofen does not induce muscular lesions (Machin et al., 2001), contrary to carprofen, flunixin meglumine and meloxicam that caused myositis and muscular necrosis (Machin et al., 2001; Sinclair et al., 2012; Zollinger et al., 2011). A study evaluating injection site tolerance of Ketofen® (Ketoprofen, 100 mg/ml, Zoetis Inc., Kalamazoo, MI, USA) showed that SC injections of ketoprofen in cattle induced macroscopic tissue discoloration and histological changes including fibrosis, hemorrhage, fibrin accumulation, necrosis of adipose tissue and mixed cell inflammation (Food and Drug Administration, 2021). These findings are similar to those noted in the present study. The small size of the triceps muscles of bearded dragons probably contributed to the severity of muscular lesions. Indeed, multiple intramuscular injections into a small muscle mass can cause myositis, myopathies, paresis, and ambulatory difficulties (Perry & Mitchell, 2019). Hydration

status and body temperature should be adequate to ensure appropriate muscular perfusion prior to IM injections (Perry & Mitchell, 2019). In addition, SC administration should be favored whenever supported by evidence-based studies.

No toxic effects on the gastrointestinal system were detected on post-mortem examination. Two individuals had an egg yolk coelomitis and one individual had a salpingitis, which could have caused bleeding into the cloaca and thus positive FOB tests (Stahl & DeNardo, 2019). Bearded dragon reproductive, urinary and digestive tracts empty into the cloaca. Thus stools can be contaminated with blood from these systems, causing a positive FOB test (Gibbons et al., 2006). Two individuals from the 20 mg/kg treatment group had a positive FOB test without lesions noted in their reproductive or urinary systems. Alternatively, the hemoglobin contained in a red meat diet is known to cause false positive FOB tests. The composition of insects' hemolymph differs from mammalian blood, and it is unknown if the insect-based diet of bearded dragons could have altered the results of the tests. In brief, it is not possible to conclude if these positive tests are suggestive of gastrointestinal bleeding due to concomitant morbidities and lack of validation of this test in reptiles. While regularly reported in mammals, gastrointestinal lesions associated with NSAID administration have only rarely been reported in birds. In American kestrels (*Falco sparverius*), administration of high dosages of oral meloxicam caused gross punctiform erosions of the proventriculus/ventriculus and histopathological evaluation showed mucosal ulceration and mineralization of the gastric mucosa (Summa et al., 2017).

No toxic effect of ketoprofen on the kidney was detected via biochemistry or histopathology. Histologically, no acute tubular degeneration or necrosis was noted, which is a common renal lesion associated with NSAID toxicity (Breshears & Confer, 2017). Compared with mammalian kidneys which have millions of nephrons, reptile kidneys contain only thousands of nephrons, which could hypothetically be more susceptible to renal toxicity (Rockwell & Mitchell, 2019). Chronic renal histological

changes were observed in all three groups and were considered unrelated to treatment. Chronic glomerulonephritis in reptiles is characterized by fibrosis, glomerular tuft sclerosis and tubular nephrosis (Origgi, 2018). Deposition of brown pigments in tubular epithelial cells is another common finding and is described as melanin degradation product (Origgi, 2018). Susceptibility to renal toxicity associated with NSAIDs administration differs between avian species and extrapolation from one species to another should be done with caution (Rattner et al., 2008). Old World *Gyps* vultures are extremely susceptible to NSAID toxicity, with adverse effects including acute tubular necrosis, visceral gout and renal insufficiency, which often lead to death (Swan et al., 2006). On the other hand, kestrels do not display renal lesions when administered high doses of meloxicam up to 20 mg/kg (Summa et al., 2017).

No toxic effect of ketoprofen on the liver was detected via biochemistry or histopathology. Hepatic lipidosis severity was not significantly different among groups which suggests that this finding was not related to the treatment. Fat deposition in hepatocytes is a common finding in captive reptiles (Divers, 2019; Origgi, 2018). It can reflect a physiological or pathological process and can be influenced by several factors including species, age, gender, reproductive and nutritional status. High-fat diet and lack of exercise are common causes of hepatic lipidosis. Studies in birds have reported liver toxicity, characterized by hepatic lipidosis and necrosis, associated with administration of various NSAIDs such as carprofen, diclofenac and meloxicam (Hussain et al., 2008; Summa et al., 2017; Zollinger et al., 2011).

No difference in blood clotting time was detected among groups before and after treatment, but evaluating clotting function with the capillary tube method has a low sensitivity (Bigland & Starr, 1965). Other techniques, such as platelet viscoelastic techniques, could be used in future studies, as viscoelastic techniques are poor indicators of platelet function (Whiting et al., 2015). These techniques would need to be validated in reptiles first. In mammals, NSAIDs can increase blood clotting time by

inhibiting COX-1 enzyme in platelets which inhibits thromboxane A<sub>2</sub>. Mammalian platelets lack a nucleus to synthesize proteins which causes a prolonged antithrombotic effect. It is hypothesized that NSAIDs could have less effect on blood clotting time in reptiles because they have nucleated thrombocytes that could produce new enzymes (Dijkstra et al., 2015). However, little is known about reptile coagulation and no gold-standard technique has been described in bearded dragons to date.

Additional limitations of the study include the small number of individuals used. Although bearded dragons were considered healthy based on physical examination, blood tests and FOB tests, two individuals were affected by an egg yolk coelomitis. Moreover, the capillary tube method and FOB tests have not been validated in reptiles yet; thus results must be interpreted with caution.

Research perspectives following this project include the comparison of effects of meloxicam and ketoprofen and a pharmacodynamic study of ketoprofen in reptiles. Future studies could also evaluate the effects of oral and subcutaneous administration of ketoprofen as it could potentially be less irritating than intramuscular injections.

## **6. Conclusion**

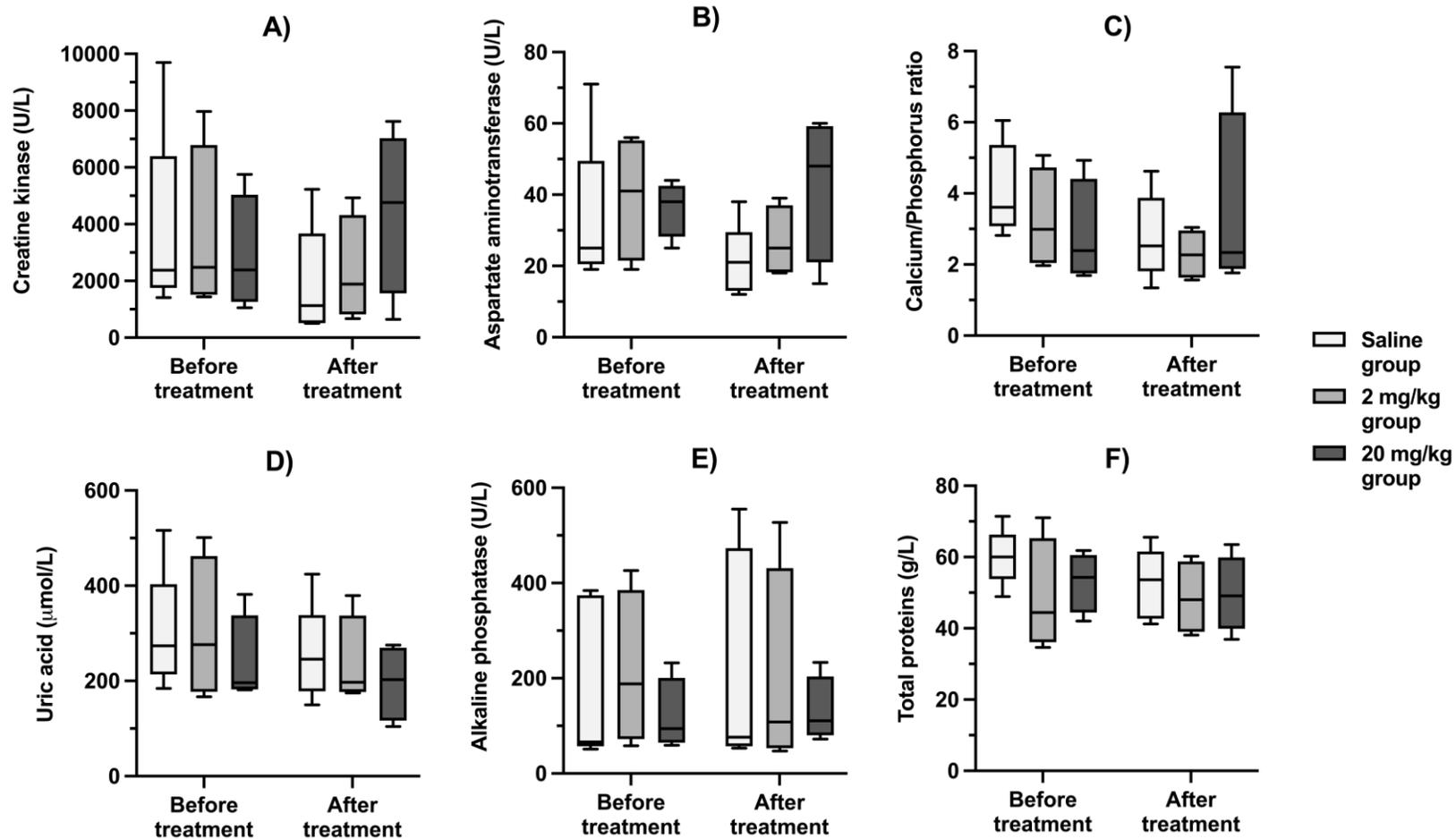
In conclusion, administration of ketoprofen at 2 mg/kg IM diluted 1:10 with saline once daily for 14 days did not cause adverse effects in this limited number of bearded dragons. The absence of renal and hepatic adverse effects with 20 mg/kg IM once daily for 14 days suggests a wide therapeutic margin for ketoprofen in bearded dragons. However, the occurrence of severe muscular necrosis with this dosage suggests that the repetitive use of high dose undiluted ketoprofen can be irritating for the muscular tissues. The results of this study will improve reptile antinociceptive management by allowing the use of a non-specific COX inhibitor and highlighting which adverse effects should be monitored when this medication is administered. However, it is worth remembering that antinociception properties of ketoprofen remain to be studied in

reptiles. The same precautions as recommended in mammals should be implemented when administering NSAIDs to reptiles, including proper hydration, appetite and injection site monitoring, as well as adjustment of the dosage based on the renal and hepatic health of the animal.

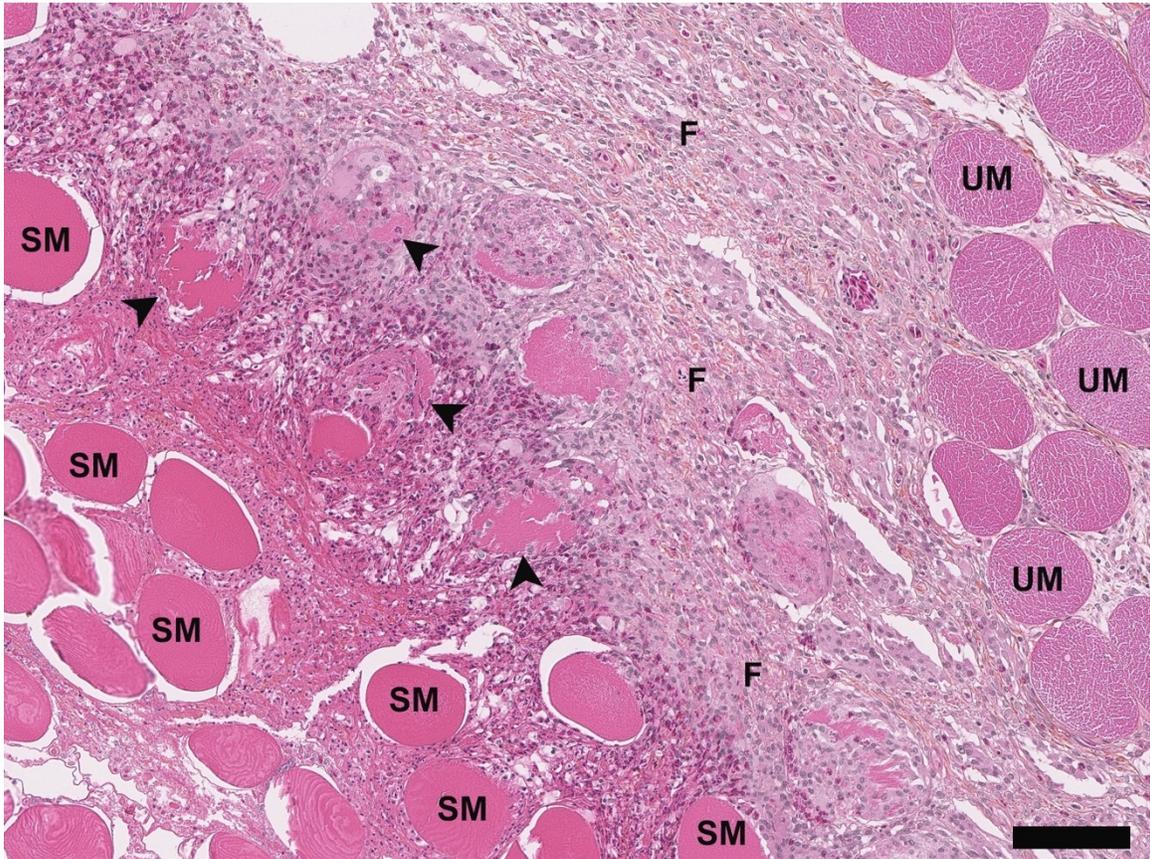
## **7. Acknowledgments**

This project was funded by a Research and Conservation grant of the Association of Reptile and Amphibian Veterinarians, the Fonds en santé des animaux de compagnie of the Université de Montréal, and a grant from Natural Sciences and Engineering Research Council (NSERC) of Canada. The terrariums and their supplies were donated by Rolf C. Hagen Inc.

## **8. Figures**



**Figure 1.** Plasma concentrations of six biochemistry parameters before and after administration of saline (n = 5), 2 mg/kg (n = 4) or 20 mg/kg (n = 4) of ketoprofen once daily for 14 days in thirteen bearded dragons (*Pogona vitticeps*): A) Creatine kinase (CK), B) Aspartate aminotransferase (AST), C) Calcium/phosphorus ratio, D) Uric acid, E) Alkaline phosphatase (ALP), F) Total proteins.



**Figure 2.** Photomicrograph of intramuscular injection site from a bearded dragon (*Pogona vitticeps*) treated with 20 mg/kg of ketoprofen once daily for 14 days showing an area of extensive muscular necrosis characterized by the presence of swollen hyperacidophilic myocytes (SM), fragmented and coagulated myocytes (arrowheads) and marked fibrosis of the interstitial space (F) infiltrated by numerous heterophils and macrophages. Unaffected myocytes are also present on this section (UM) (bar = 100  $\mu$ m, hematoxylin, eosin and safran stain).

## **Chapitre 3 – Résultats supplémentaires non présentés dans l'article**

### **1. Biopsies hépatiques et rénales guidées par endoscopie**

#### **1.1. Introduction**

Une partie du projet n'a pas été mentionnée dans l'article scientifique et sera discutée ci-dessous. Un objectif secondaire de l'étude était d'évaluer si des biopsies rénales et hépatiques guidées par endoscopie seraient aussi sensibles qu'une analyse *post-mortem* des organes pour détecter des lésions. Cette procédure a été réalisée afin d'évaluer une technique diagnostique *ante-mortem* non invasive de l'intégrité du foie et des reins et qui serait applicable en clinique. En effet, les paramètres hématologiques et biochimiques sont peu sensibles et spécifiques pour évaluer la fonction rénale et hépatique chez les reptiles (Campbell, 2014).

#### **1.2. Matériels et méthodes**

Après les deux semaines de traitements, des biopsies rénales et hépatiques guidées par endoscopie ont été planifiées sous anesthésie générale. Une dose de 0,5 mg/kg de vitamine K (Vitamin K1 Injection, 10 mg/mL, Vetoquinol, Lavaltrie, QC, Canada) a été administrée dans les muscles épaxiaux, la veille de la procédure, en raison des risques de saignements rapportés chez des lézards présentant de la lipidose hépatique (Parkinson et al., 2021). Les dragons barbus ont été prémédiqués avec 2 mg/kg de morphine par voie sous-cutanée (Morphine Sulfate Injection USP, 10 mg/mL, Sandoz Canada, Boucherville, QC, Canada) administrée une heure avant l'induction. Ils ont ensuite été induits avec 5-15 mg/kg d'alfaxolone par voie sous-cutanée (Alfaxan Multidose, 10 mg/mL, Jurox Pty Ltée, Rutherford, NSW, Australie). L'anesthésie générale était maintenue avec une concentration de 1 à 3% d'isoflurane (Isoflurane USP, Fresenius Kabi Canada Ltd., Toronto, ON, Canada) dans l'oxygène administré via un tube

endotrachéal sans ballonnet (2 mm, *Uncuffed endotracheal tube*, Veterinary Specialty Products, Shawnee, KS, États-Unis, ou 14-18 G, BD Angiocath, Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ, États-Unis). Puis, le suivi anesthésique était effectué avec un doppler (Ultrasonic Doppler Flow Detector, Model 811-B, Parks Medical Electronics, Aloha, OR, États-Unis) placé sur le cœur ainsi qu'un capnomètre (Microcap® Plus, Oridion, Jérusalem, Israël). La température corporelle était maintenue avec un tapis chauffant, une lampe infrarouge et des sacs chauffants. Les dragons barbus étaient positionnés en décubitus latéral droit (voir Figure 3, p.103), comme décrit dans une étude précédente (Frei et al., 2020). Puis, 5 mg/kg de lidocaïne (Lurocaine, 20 mg/mL, Vetoquinol, Lavaltrie, QC, Canada) a été injectée dans les tissus sous-cutanés au site d'incision entre deux côtes, à mi-chemin entre les membres thoraciques et les membres pelviens (voir Figure 3, p.103). Un endoscope rigide (2,7 mm, 30°, Karl Storz Endoscopy Canada, Mississauga, ON, Canada) recouvert d'une gaine a été introduit dans le cœlome par une approche latérale gauche avec une insufflation de CO<sub>2</sub>, tel que décrit précédemment (Frei et al., 2020), ou avec une irrigation de saline. Les biopsies hépatiques, puis rénales, ont été obtenues à l'aide de pinces flexibles à biopsie (Elliptical cup, 5 Fr, Karl Storz Endoscopy Canada, Mississauga, ON, Canada). Après le prélèvement des biopsies, les dragons barbus ont été euthanasiés tels que décrit précédemment.



**Figure 3.** Dragon barbu positionné en décubitus latéral droit maintenu par deux serviettes roulées, recouvert d'un champ chirurgical transparent, présentant une incision coelomique à mi-chemin entre les membres thoraciques et les membres pelviens afin d'effectuer des biopsies hépatiques et rénales guidées par endoscopie.

### **1.3. Résultats**

Les biopsies hépatiques ont permis d'obtenir un échantillon diagnostique chez 10 individus sur 13. Un échantillon n'a pas pu être obtenu chez trois individus à cause de la présence d'effusion coelomique opaque ( $n = 1$ ), ou une biopsie a été effectuée par inadvertance au niveau de la paroi coelomique ( $n = 1$ ) ou des corps adipeux ( $n = 1$ ). La variabilité de la couleur du foie entre les individus et l'apparence similaire des structures anatomiques adjacentes représentaient le plus grand défi pour la prise de biopsies hépatiques.

Les biopsies rénales étaient particulièrement difficiles à effectuer à cause de la présence de larges vaisseaux sanguins entourant les reins, de la coloration foncée similaire des reins et de la paroi coelomique adjacente, et du grand diamètre du colon. Chez deux individus, le prélèvement de biopsies n'était pas possible à cause de la visualisation

inadéquate des reins causée par de l'effusion cœlomique opaque ou par une obstruction par le colon. Au total, les biopsies rénales ont permis d'obtenir un échantillon de tissu rénal diagnostique chez seulement cinq dragons barbus sur 13. Dans un des cinq échantillons de rein prélevés, un segment de canal déférent contenant des spermatozoïdes a aussi été visualisé. Les échantillons de tissus n'étaient pas diagnostiques à cause du prélèvement par inadvertance de la paroi cœlomique (n = 3) ou de la capsule rénale seulement (n = 3). Une hémorragie rénale modérée était visualisée immédiatement après la prise de biopsies chez plusieurs individus de tous les groupes. Étant donné que les animaux ont été euthanasiés avant le réveil, l'évolution de ces saignements n'a pas pu être évaluée.

À la nécropsie, des érosions superficielles de la capsule hépatique et des hémorragies ont été notées sur le lobe hépatique gauche d'un individu. Ces lésions ont fort probablement été causées par l'endoscope puisqu'elles étaient situées vis-à-vis le site d'insertion.

#### **1.4. Discussion**

Les biopsies hépatiques étaient globalement plus fructueuses que les biopsies rénales chez ces 13 dragons barbus. D'abord, l'endoscopie a permis d'évaluer macroscopiquement une grande partie du foie et de prélever plusieurs échantillons à divers endroits. De plus, les biopsies hépatiques ont permis d'obtenir des échantillons de bonne qualité diagnostique. Tel que décrit dans une autre étude, le lobe droit du foie était toutefois difficilement visualisable avec cette approche latérale gauche du cœlome (Frei et al., 2020). Dans la présente étude, le foie de plusieurs individus était friable et fragile à cause de la présence de lipidose hépatique et par conséquent, celui-ci était susceptible aux hémorragies. Dans une étude précédente, des biopsies hépatiques guidées par endoscopie ont été réalisées chez 11 iguanes verts et aucun effet adverse n'a été observé à la nécropsie effectuée 10 jours après la procédure (Hernandez-Divers et al., 2007). Toutefois, ces iguanes verts étaient tous des mâles alors que plusieurs

dragons barbus de la présente étude étaient des femelles en reproduction présentant de la lipidose hépatique. Le signalement des individus pourrait avoir de l'importance pour limiter les complications liées aux biopsies hépatiques.

Les biopsies rénales guidées par endoscopie ont majoritairement été infructueuses. La technique utilisée était via une approche latérale gauche du cœlome. Dans une étude évaluant les techniques de coelioscopie chez le dragon barbu, le rein gauche était plus facilement visualisable via l'approche latérale gauche que via l'approche ventrale du cœlome (Frei et al., 2020). Les reins des dragons barbus sont situés dans le canal pelvien, donc seulement le pôle crânial est accessible par endoscopie (Bucy et al., 2015). Les reins étaient difficiles à visualiser chez plusieurs individus en raison de la présence d'un épanchement cœlomique opaque, du colon et des corps adipeux volumineux, et de l'appareil reproducteur chez certaines femelles. De plus, il est possible que les biopsies rénales étaient plus difficiles à effectuer étant donné que les biopsies hépatiques étaient effectuées en premier. En effet, la prise de biopsies d'un foie sévèrement lipidique créait une effusion cœlomique trouble, ce qui nuisait à la visualisation des reins. De plus, les dragons barbus n'ont pas été mis à jeun avant la procédure afin d'éviter les effets aderses gastro-intestinaux des AINS. Ainsi, une période de jeûne d'une durée de 24 à 48 heures aurait pu aider à réduire la taille du tractus gastro-intestinal et ainsi améliorer la visualisation des reins (Frei et al., 2020). Un segment du canal déférent contenant des spermatozoïdes était présent dans un échantillon de biopsie rénale. En effet, les reins des dragons barbus mâles sont partiellement recouverts par le canal déférent et celui-ci peut donc être endommagé lors de la prise de biopsie (Divers & Innis, 2019). La lacération du canal déférent pourrait potentiellement mener à l'écoulement de liquide séminale dans la cavité cœlomique et causer une réaction inflammatoire. De plus, des hémorragies modérées sont survenues directement après le prélèvement de tissus rénaux chez plusieurs individus de tous les groupes et celles-ci pourraient représenter une complication potentiellement mortelle. Le suivi postopératoire n'a toutefois pas pu être effectué étant donné que l'étude était

terminale. Dans une étude publiée précédemment, des biopsies rénales guidées par endoscopie ont été effectuées chez 23 iguanes verts et ils se sont tous rétablis sans complications. De plus, les échantillons étaient d'excellente qualité diagnostique et ils corrélaient avec les tissus prélevés à la nécropsie et évalués à l'histologie (Hernandez-Divers et al., 2005). En bref, il est possible que la technique utilisée ou la taille des lézards aient pu influencer les résultats obtenus dans la présente étude. Dans une situation clinique, des biopsies rénales via une approche chirurgicale du pôle caudal du rein, au niveau de la partie crânial de la queue, seraient donc à privilégier.

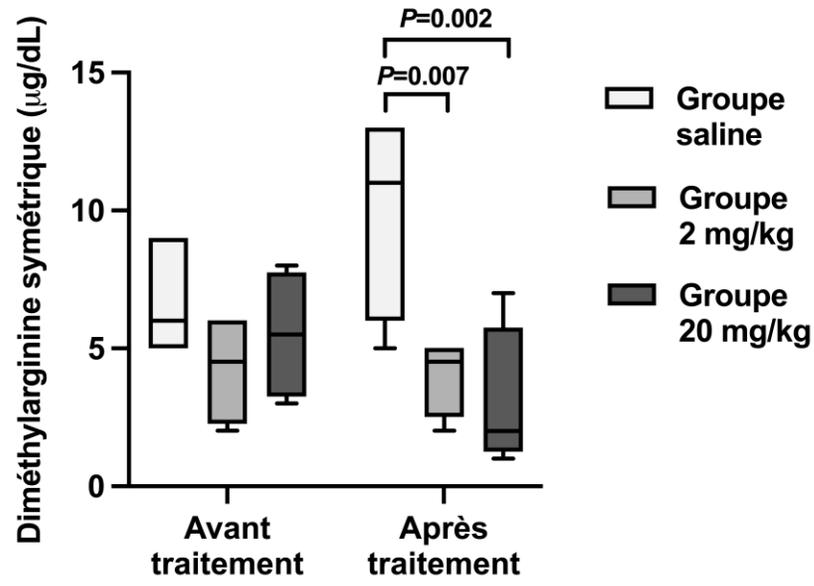
## **2. Diméthylarginine symétrique**

Dans la présente étude, la SDMA est un paramètre sanguin qui a également été évalué avant et après les deux semaines de traitements. Toutefois, ce paramètre n'a pas encore été validé chez les reptiles (étude en cours) et des valeurs de références n'ont pas été publiées jusqu'à présent. Par conséquent, la SDMA a été exclue de l'article.

Le plasma congelé a été envoyé dans un laboratoire afin de mesurer la concentration plasmatique en SDMA (Idexx Laboratories, Markham, ON, Canada). Puis, des analyses statistiques ont été effectuées à l'aide d'un logiciel de statistiques (SAS v9.4, SAS Institute, Cary, NC, États-Unis). Des modèles mixtes linéaires ont été utilisés pour comparer les concentrations plasmatiques entre les groupes, et avant et après le traitement. Le groupe, le temps et leur interaction étaient des facteurs fixes et le numéro d'identification du dragon barbu était un facteur aléatoire. La normalité des valeurs résiduelles de chaque modèle a été évaluée graphiquement. Les paires de moyennes ont été comparées à l'aide de la procédure séquentielle de Benjamin-Hochberg pour ajuster les valeurs alpha à la baisse. Le niveau de signification statistique était fixé à 0,05.

La concentration plasmatique de la SDMA était statistiquement différente entre les groupes ( $p = 0,015$ ). En effet, la concentration plasmatique post-traitement de la SDMA

était significativement plus élevée dans le groupe témoin que dans le groupe 2 mg/kg ( $p = 0,007$ ) et le groupe 20 mg/kg ( $p = 0,002$ ), respectivement (voir Figure 4, p.108). Cette différence est un résultat étonnant, mais elle est toutefois considérée non significative cliniquement. Étant donné qu'aucun dragon barbu n'avait de lésions rénales qui auraient pu être associées à une perte de fonction rénale, il demeure impossible de déterminer, avec les résultats de la présente étude, l'utilité de la SDMA comme marqueur de la fonction rénale chez les reptiles.



**Figure 4.** Concentration plasmatique de diméthylarginine symétrique (SDMA) avant et après l'administration de saline (n = 5), de 2 mg/kg (n = 4) ou de 20 mg/kg (n = 4) de kétoprofène une fois par jour durant 14 jours à 13 dragons barbus. (Diagramme réalisé à l'aide de GraphPad Prism 9, version 9.3.1, San Diego, CA)

## Chapitre 4 – Discussion générale

En médecine vétérinaire, il est fondamental de prendre en compte le bien-être animal, ce qui implique d'administrer des médicaments analgésiques aux vertébrés dans des situations qui seraient douloureuses chez les êtres humains (Sladky et al., 2007). Ce principe s'applique tout autant aux groupes taxonomiques moins étudiés et qui, comme les reptiles, expriment plus subtilement leur douleur. Afin d'améliorer le bien-être de ces espèces de façon efficace et sécuritaire, il est toutefois nécessaire de faire progresser l'état des connaissances sur leur analgésie. Le but du projet était d'étudier les effets de l'administration du kétoprofène chez les dragons barbus, car bien que les AINS soient fréquemment utilisés chez les reptiles en clinique, peu d'études pharmacocinétiques, pharmacodynamiques ou de toxicité ont été publiées (Rockwell & Mitchell, 2019).

La présente étude a permis de mettre en évidence que l'administration intramusculaire quotidienne, durant 14 jours, de kétoprofène à 2 mg/kg dilué 1:10 avec de la saline est sécuritaire chez le dragon barbu en bonne santé dans les conditions de l'étude. En effet, selon les paramètres évalués, son administration n'a pas causé d'effets indésirables chez les quatre dragons barbus du groupe. L'étude a également permis d'identifier un effet adverse potentiel du kétoprofène puisque la dose de 20 mg/kg a causé de la nécrose musculaire sévère aux sites d'injections chez les quatre individus de ce groupe.

Les effets adverses potentiels du kétoprofène ont seulement été évalués récemment dans une étude chez la tortue caouanne en se basant sur des paramètres *ante-mortem*, tels que des signes cliniques, des paramètres hématologiques et biochimiques ainsi que la coagulation sanguine évaluée avec la technique de thromboélastographie (Harms et al., 2021). Cependant, l'évaluation des signes cliniques est subjective et les comportements évoquant de la douleur peuvent être subtils et difficiles à interpréter, autant chez la tortue caouanne que le dragon barbu (Schilliger et al., 2021). De plus, les

paramètres hématologiques et biochimiques sont peu sensibles et spécifiques pour évaluer la fonction rénale et hépatique chez les reptiles (Divers, 2019; Divers & Innis, 2019). En raison du défi que représente l'évaluation *ante-mortem* de l'intégrité des organes, la présente étude était terminale afin de permettre une analyse histopathologique des tissus (Hernandez-Divers & Innis, 2006).

Dans cette étude, le seul effet adverse rapporté du kétoprofène était l'induction de lésions musculaires aux sites d'injections. Un seul individu du groupe 20 mg/kg a présenté cliniquement des lésions noirâtres cutanées et une rigidité des muscles triceps. En revanche, l'évaluation histopathologique a révélé que les quatre individus du groupe présentaient des lésions sévères de nécrose musculaire, ce qui démontre l'importance d'effectuer des analyses histopathologiques lors des études de toxicité. La nécrose musculaire est une trouvaille inattendue puisque cet effet adverse a rarement été rapporté suite à l'utilisation d'AINS en médecine vétérinaire, toutefois ce type de lésion est difficilement observable *ante-mortem*. Des lésions musculaires ont été notées suivant l'administration de kétoprofène à des bovins (Food and Drug Administration, 2021), mais pas à des canards colverts (Machin et al., 2001). Contrairement à l'hypothèse de départ, la dose élevée de 20 mg/kg n'a pas causé de lésions rénales, hépatiques et gastro-intestinales détectables. Ces résultats confirment que la susceptibilité aux effets toxiques liés à l'administration d'AINS varie fortement entre les espèces, comme c'est le cas chez les mammifères et les oiseaux (Oaks & Meteyer, 2012; Talcott & Gwaltney-Brant, 2013).

Il n'a pas été possible de déterminer si les tests de sang occulte fécal positifs suggéraient l'existence de saignements gastro-intestinaux étant donné la présence de comorbidités au niveau du système reproducteur chez certains individus et étant donné l'absence de validation de ce type de test chez les reptiles (Stahl & DeNardo, 2019). Les tests au gaïac sont très sensibles pour détecter des saignements et, par conséquent, l'hémoglobine présente dans une diète à base de viande peut causer des faux positifs (Gibbons et al.,

2006). Il serait intéressant de vérifier si l'hémolymphe des insectes peut également altérer le résultat de ces tests chez les reptiles insectivores en causant des faux positifs. Des études évaluant les effets adverses potentiels du kétoprofène chez des chiens ont quant à elles détecté la présence de lésions gastro-intestinales par évaluation endoscopique (Forsyth et al., 1998; Luna et al., 2007; Monteiro et al., 2019). Cette technique serait cependant difficile à effectuer chez des dragons barbus en raison de leur petite taille.

D'autre part, il n'y avait pas de différence dans le temps de coagulation sanguine, mais l'évaluation de la fonction thrombocytaire est peu sensible avec la méthode des tubes capillaires non héparinés (Bigland & Starr, 1965). Il aurait été préférable d'évaluer les effets du kétoprofène sur la coagulation sanguine à l'aide d'analyseurs spécialisés de fonction plaquettaire (Ranucci & Baryshnikova, 2020), mais ceux-ci n'étaient pas accessibles pour la présente étude. Il serait néanmoins intéressant de déterminer si ces analyseurs sont fiables pour évaluer la fonction thrombocytaire chez les reptiles. Quelques études chez le chien ont montré que l'administration de kétoprofène a causé une diminution de l'agrégation plaquettaire, toutefois la signification clinique de cette trouvaille demeure à être étudiée (Lemke et al., 2002; Monteiro et al., 2019).

Une technique de biopsie endoscopique a également été étudiée afin d'évaluer si elle est sécuritaire, sensible et facilement réalisable pour effectuer une évaluation histologique du foie et des reins en clinique. Les biopsies hépatiques étaient rapides à effectuer et ont permis d'obtenir des échantillons de bonne qualité pour l'évaluation histopathologique. Ces résultats confirment que cette technique représente un outil diagnostique utile pour évaluer l'intégrité du foie (Hernandez-Divers et al., 2007). Le volume de tissu disponible reste cependant limité et celui-ci n'est pas nécessairement représentatif de l'état général du foie, surtout pour des changements non diffus. Contrairement à ce qui est décrit dans la littérature (Hernandez-Divers et al., 2005), les biopsies rénales étaient quant à elles difficiles à effectuer par voie coelomique en raison

de la visibilité réduite et de l'accès limité aux reins des dragons barbus. Par conséquent, il serait bénéfique d'établir une technique diagnostique facile et sécuritaire afin d'évaluer la fonction rénale chez les dragons barbus en clinique. Par exemple, il serait intéressant d'étudier la pertinence clinique de la SDMA et d'établir des valeurs de référence. Les maladies rénales sont fréquentes chez les reptiles et ce paramètre sanguin est un marqueur sensible et spécifique pour détecter précocement une insuffisance rénale chez le chien et le chat (Hall et al., 2016). Néanmoins, des études additionnelles seraient nécessaires afin de déterminer si ce marqueur est d'intérêt chez les reptiles. Il aurait aussi pu être pertinent cliniquement d'évaluer la clairance de l'iohexol chez les dragons barbus. En effet, c'est une technique sécuritaire, sensible et validée chez les mammifères pour évaluer la fonction rénale via la mesure du DFG (Pocar et al., 2019; Schwartz et al., 2006) et celle-ci a aussi été étudiée chez quelques espèces de reptiles (Hernandez-Divers et al., 2005; Innis et al., 2016; Kennedy et al., 2012). D'ailleurs, une diminution de la clairance de l'iohexol a été notée chez des chiens suivant l'administration quotidienne prolongée de kétoprofène (Monteiro et al., 2019).

L'étude comporte d'autres limites, notamment le petit nombre d'individus utilisés pour des raisons éthiques. De plus, bien que les dragons barbus utilisés étaient considérés en santé selon l'examen physique et les analyses sanguines, deux individus présentaient une coelomite à jaune d'œuf. La présence de cette comorbidité a par conséquent pu potentiellement complexifié l'interprétation des résultats. L'évaluation de la coagulation sanguine par la méthode des tubes capillaires est peu sensible et l'utilisation des tests de sang occulte fécal n'a pas encore été validée chez les reptiles, donc ces résultats doivent être interprétés avec précaution. Aussi, les nécropsies ont été effectuées le lendemain des deux semaines de traitements, donc il est possible que des lésions se soient développées plus tard et qu'elles n'aient donc pas pu être détectées. Finalement, une limitation générale du projet est la validité des données récoltées dans la littérature concernant la médecine des reptiles. En effet, plusieurs informations sont extrapolées de la médecine des mammifères ou proviennent de livres ou de revues de littérature

plutôt que d'articles de recherche, reflétant le manque de recherche scientifique à ce sujet.

Cette étude ajoute des données d'intérêt à la littérature concernant la dose et la forme d'administration du kétoprofène recommandées chez les reptiles. En effet, il serait conseillé d'administrer une dose de 2 mg/kg et de diluer le médicament afin de réduire son effet irritant lors de son administration intramusculaire. À la suite des résultats des deux études pharmacocinétiques, d'une étude de toxicité chez la tortue caouanne et de la présente étude, la dose recommandée de kétoprofène est de 2 mg/kg, dilué 1:10 avec de la saline, administrée par voie intramusculaire aux 24 heures. Cette dose est toutefois extrapolée de la littérature canine et féline, donc on ne sait pas s'il s'agit d'une dose efficace chez les reptiles.

Bien que les quelques dragons barbus du groupe 2 mg/kg n'aient pas développé d'effets aduerses, il est primordial d'utiliser judicieusement les AINS puisque leur toxicité peut varier entre les individus et les espèces de reptiles. Les mêmes précautions que chez les mammifères doivent être prises pour minimiser les risques d'effets indésirables. Par exemple, l'administration d'AINS est contre-indiquée chez les animaux déshydratés ou hypotensifs et ils doivent être utilisés avec prudence chez les patients avec une dysfonction hépatique, cardiaque ou rénale (Epstein et al., 2015).

Les résultats de cette étude permettront l'utilisation sécuritaire de kétoprofène chez des reptiles présentés en clinique pour diverses conditions pathologiques, telles que la pododermatite, la maladie parodontale, l'arthrose, la spondylite, l'ostéomyélite, la goutte articulaire, les brûlures cutanées, ainsi qu'en période postopératoire (Rockwell & Mitchell, 2019). Étant donné que le processus de guérison des reptiles est plus lent que celui des mammifères, ceux-ci pourraient potentiellement bénéficier d'une administration plus longue d'AINS (Mader et al., 2006). Cependant, il est pertinent de noter que même si l'inflammation aiguë cause des signes indésirables, tels que la

douleur et l'enflure, celle-ci joue aussi un rôle important dans le processus normal de réparation tissulaire (Koh & DiPietro, 2011). Ainsi, bien que les AINS produisent des effets anti-inflammatoire et analgésique, ils peuvent parfois nuire aux mécanismes de guérison. Par exemple, des études suggèrent que l'utilisation prolongée de certains inhibiteurs de la COX peut réduire le processus de guérison osseuse d'une fracture et donc causer une union retardée ou une non-union (Giannoudis et al., 2000; Murnaghan et al., 2006; Wheatley et al., 2019). De plus, une étude récente a montré que l'utilisation d'AINS, par des personnes atteintes d'une douleur aiguë au bas du dos, augmente le risque de développer une douleur chronique (Parisien et al., 2022). En effet, l'activation des neutrophiles via la réponse inflammatoire aiguë favoriserait la guérison des tissus lésés et empêcherait la transition de la douleur aiguë vers la douleur chronique (Parisien et al., 2022). En bref, la dose et la durée d'administration des AINS permettant d'obtenir des bénéfices cliniques optimaux à long terme demeurent incertaines.

Une perspective de recherche à la suite des résultats de ce projet est l'étude de l'administration orale ou sous-cutanée du kétoprofène afin d'éviter l'irritation tissulaire causée par les injections intramusculaires. Il serait également pertinent d'effectuer une étude pharmacodynamique chez les reptiles afin d'évaluer si le kétoprofène et les autres AINS produisent un effet antinociceptif. Chez les reptiles, plusieurs modèles d'évaluation de la nociception ont été utilisés pour déterminer l'efficacité des opioïdes, dont l'induction d'un stimulus thermique, chimique, mécanique ou électrique (Mosley, 2011). Les modèles causant une douleur aiguë sont efficaces pour étudier l'efficacité des opioïdes puisque ceux-ci permettent de modifier la réponse comportementale produite. En revanche, ces modèles ne sont pas adéquats pour évaluer les AINS puisque ces médicaments n'affectent pas les mécanismes de nociception aiguë. Par conséquent, les résultats obtenus à l'aide de ce type de modèle pour évaluer la pharmacodynamie du kétoprofène chez le dragon barbu (Greenacre et al., 2008) sont difficilement interprétables. En cas d'inflammation, il se produit une augmentation de la sensibilité des nocicepteurs à des stimuli douloureux thermiques ou mécaniques, c'est-à-dire une

hyperalgésie (Walker et al., 1999). Les AINS agissent sur les mécanismes qui se développent durant les processus pathologiques, dont les mécanismes neuronaux et les médiateurs de l'inflammation (ex. : prostaglandines) qui sont impliqués dans le processus d'hyperalgésie (Yaksh et al., 1998). Un modèle adéquat permettant l'évaluation de l'efficacité des AINS consiste à induire de l'inflammation via l'injection d'agents chimiques irritants (ex. : capsaïcine ou formol), chirurgicalement ou via les rayonnements ultraviolets (Walker et al., 1999). Une fois l'état inflammatoire installé, l'application d'un stimulus thermique ou mécanique peut permettre de détecter l'hyperalgésie et caractériser les effets des médicaments (Walker et al., 1999). En effet, dans les modèles de douleur qui produisent une hyperalgésie induite par l'inflammation, les AINS permettent le retour du seuil nociceptif au niveau basal, c'est-à-dire à l'état non-inflammatoire (Yaksh et al., 1998). D'ailleurs, la majorité des études pharmacodynamiques des AINS chez les oiseaux utilise un modèle qui crée de l'inflammation, tel que le modèle expérimental par injection intra-articulaire de cristaux d'urates ou par l'induction d'une fracture (Cole et al., 2009; Desmarchelier et al., 2012). Ces études mettent en évidence que les AINS sont particulièrement efficaces comme analgésique dans les cas de lésions des tissus périphériques, d'inflammation et d'hyperalgésie. Un de ces modèles pourrait être utilisé pour évaluer la pharmacodynamie du kétoprofène chez un lézard. Par exemple, une injection sous-cutanée de formol pourrait être effectuée à l'extrémité distale de la patte d'un dragon barbu, puis le temps de retrait en réponse à un stimulus thermique, appliquée à l'aide d'une plaque chauffante sous la surface plantaire du membre, pourrait permettre d'évaluer l'effet antinociceptif du kétoprofène. Ce type de modèle est bien décrit dans la littérature pour évaluer l'effet antinociceptif des AINS chez les rongeurs (Hunskar & Hole, 1987; Tsiklauri et al., 2017). Une étude pilote serait d'abord nécessaire afin de valider la méthodologie et elle devrait être approuvée préalablement par un comité d'éthique de l'utilisation des animaux puisqu'elle comporte des considérations éthiques.

## Conclusion

Ce projet a permis de conclure que la dose de kétoprofène de 2 mg/kg dilué 1:10 avec de la saline est sécuritaire chez le dragon barbu. De plus, l'absence d'effets adverses rénaux et hépatiques avec la dose de 20 mg/kg suggère que le kétoprofène a une large marge thérapeutique chez cette espèce. Ainsi, les résultats de l'étude permettront d'améliorer le bien-être des lézards atteints d'une condition inflammatoire en permettant l'utilisation d'un AINS inhibiteur non sélectif de la COX. Cependant, l'induction de nécrose musculaire sévère indique que l'administration répétée d'une dose élevée (20 mg/kg) de kétoprofène non dilué est irritante pour les muscles. Ainsi, ce projet a permis de mettre en évidence que les sites d'injections musculaires doivent particulièrement être surveillés lorsque du kétoprofène est administré à des patients en clinique. Cette étude est la première à publier les effets toxiques potentiels de ce médicament chez une espèce de lézard et la deuxième chez une espèce de reptile. Il serait pertinent d'évaluer si les AINS, dont le kétoprofène, permettent un effet antinociceptif chez les reptiles aux doses actuellement recommandées dans la littérature. Pour l'instant, plusieurs études affirment que les opioïdes agonistes du récepteur mu, les agonistes  $\alpha$ 2-adrénergiques et les anesthésiques locaux permettent d'inhiber la nociception chez ces espèces. L'utilisation de ces médicaments antinociceptifs est donc recommandée et ils peuvent être utilisés en combinaison avec un AINS dans un protocole d'analgésie multimodale. À long terme, l'objectif sera d'améliorer la gestion de l'inflammation et de la nociception chez les reptiles tout en minimisant les risques d'effets indésirables.

## Références bibliographiques

Adamovicz, L., Griffioen, J., Cerreta, A., Lewbart, G. A., & Allender, M. C. (2019). Tissue enzyme activities in free-living eastern box turtles (*Terrapene carolina carolina*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 50(1), 45-54. <https://doi.org/10.1638/2018-0079>

Ashburn, M. A., Ogden, L. L., Zhang, J., Love, G., & Basta, S. V. (2003). The pharmacokinetics of transdermal fentanyl delivered with and without controlled heat. *The Journal of Pain*, 4(6), 291-297. [https://doi.org/10.1016/s1526-5900\(03\)00618-7](https://doi.org/10.1016/s1526-5900(03)00618-7)

Baker, B. B., Sladky, K. K., & Johnson, S. M. (2011). Evaluation of the analgesic effects of oral and subcutaneous tramadol administration in red-eared slider turtles. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 238(2), 220-227. <https://doi.org/10.2460/javma.238.2.220>

Barrillot, B., Roux, J., Arthaud, S., Averty, L., Clair, A., Herrel, A., & Libourel, P. A. (2018). Intramuscular administration of ketamine-medetomidine assures stable anaesthesia needed for long-term surgery in the Argentine tegu *Salvator merianae*. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 49(2), 291-296. <https://doi.org/10.1638/2017-0089.1>

Bigland, C. H., & Starr, R. M. (1965). Comparison of simple blood coagulation tests in birds. *Canadian Veterinary Journal*, 6(9), 233-236.

Bisetto, S. P., Melo, C. F., & Carregaro, A. B. (2018). Evaluation of sedative and antinociceptive effects of dexmedetomidine, midazolam and dexmedetomidine-midazolam in tegus (*Salvator merianae*). *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 45(3), 320-328. <https://doi.org/10.1016/j.vaa.2017.12.004>

Borges, M., Marini Filho, R., Laposy, C. B., Guimaraes-Okamoto, P. T., Chaves, M. P., Vieira, A. N., & Melchert, A. (2013). Nonsteroidal anti-inflammatory therapy: changes on renal function of healthy dogs. *Acta Cirurgica Brasileira*, 28(12), 842-847. <https://doi.org/10.1590/s0102-86502013001200006>

Boyer, T. H., Getzy, D., Vap, L., & Innis, C. (1996). Clinicopathologic findings of twelve cases of renal failure in *Iguana iguana*. Proceedings of the Annual Conference of the Association of Amphibian and Reptilian Veterinarians, Tampa, FL, États-Unis.

Boyer, T. H., & Innis, C. J. (2019). Chelonian taxonomy, anatomy, and physiology. In S. J. Divers & S. J. Stahl (Eds.), *Mader's reptile and amphibian medicine and surgery* (3rd ed., pp. 190-223). Elsevier.

Breshears, M. A., & Confer, A. W. (2017). The urinary system. In J. F. Zachary (Ed.), *Pathologic basis of veterinary disease* (6th ed., pp. 617-681). Elsevier.

Bucy, D. S., Guzman, D. S., & Zwingenberger, A. L. (2015). Ultrasonographic anatomy of bearded dragons (*Pogona vitticeps*). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 246(8), 868-876. <https://doi.org/10.2460/javma.246.8.868>

Budsberg, S. C. (2015). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs. In J. S. Gaynor & W. W. Muir (Eds.), *Handbook of veterinary pain management* (3rd ed., pp. 142-160). Elsevier.

Bunke, L. G., Sladky, K. K., & Johnson, S. M. (2018). Antinociceptive efficacy and respiratory effects of dexmedetomidine in ball pythons (*Python regius*). *American Journal of Veterinary Research*, 79(7), 718-726. <https://doi.org/10.2460/ajvr.79.7.718>

Campbell, T. W. (2014). Clinical pathology. In D. R. Mader & S. J. Divers (Eds.), *Current therapy in reptile medicine and surgery* (1st ed., pp. 70-92). Elsevier.

Cerreta, A. J., Masterson, C. A., Lewbart, G. A., Dise, D. R., & Papich, M. G. (2019). Pharmacokinetics of ketorolac in wild eastern box turtles (*Terrapene carolina carolina*) after single intramuscular administration. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 42(2), 154-159. <https://doi.org/10.1111/jvp.12733>

Chatigny, F., Kamunde, C., Creighton, C. M., & Stevens, E. D. (2017). Uses and doses of local anesthetics in fish, amphibians, and reptiles. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 56(3), 244-253.

Cole, G. A., Paul-Murphy, J., Krugner-Higby, L., Klauer, J. M., Medlin, S. E., Keuler, N. S., & Sladky, K. K. (2009). Analgesic effects of intramuscular administration of meloxicam in Hispaniolan parrots (*Amazona ventralis*) with experimentally induced arthritis. *American Journal of Veterinary Research*, 70(12), 1471-1476. <https://doi.org/10.2460/ajvr.70.12.1471>

Collyer, T. C., Gray, D. J., Sandhu, R., Berridge, J., & Lyons, G. (2009). Assessment of platelet inhibition secondary to clopidogrel and aspirin therapy in preoperative acute surgical patients measured by Thrombelastography Platelet Mapping. *British Journal of Anaesthesia*, 102(4), 492-498. <https://doi.org/10.1093/bja/aep039>

Corum, O., Atik, O., Durna Corum, D., Er, A., & Uney, K. (2019). Pharmacokinetics of tolfenamic acid in red-eared slider turtles (*Trachemys scripta elegans*). *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 46(5), 699-706. <https://doi.org/10.1016/j.vaa.2019.05.009>

Coutant, T., Vergneau-Grosset, C., & Langlois, I. (2018). Overview of drug delivery methods in exotics, including their anatomic and physiologic considerations. *Veterinary*

*Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, 21(2), 215-259.  
<https://doi.org/10.1016/j.cvex.2018.01.006>

Couture, E. L., Monteiro, B. P., Aymen, J., Troncy, E., & Steagall, P. V. (2017). Validation of a thermal threshold nociceptive model in bearded dragons (*Pogona vitticeps*). *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 44(3), 676-683.  
<https://doi.org/10.1016/j.vaa.2016.07.005>

Cuthbert, R., Parry-Jones, J., Green, R. E., & Pain, D. J. (2007). NSAIDs and scavenging birds: potential impacts beyond Asia's critically endangered vultures. *Biology Letters*, 3(1), 90. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2006.0554>

Dahlem, D. P., Neiger, R., Schweighauser, A., Francey, T., Yerramilli, M., Obare, E., & Steinbach, S. M. L. (2017). Plasma symmetric dimethylarginine concentration in dogs with acute kidney injury and chronic kidney disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 31(3), 799-804. <https://doi.org/10.1111/jvim.14694>

Dahlin, J., Kanui, T. I., Wambugu, S. N., & Abelson, K. S. P. (2012). The suspended formalin test : a method designed for studying formalin-induced behaviour in the Speke's hingeback tortoise (*Kinixys spekii*). *Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science*, 39(1), 11-15. <https://doi.org/10.23675/sjlas.v39i1.245>

Desmarchelier, M., Troncy, E., Fitzgerald, G., & Lair, S. (2012). Analgesic effects of meloxicam administration on postoperative orthopedic pain in domestic pigeons (*Columba livia*). *American Journal of Veterinary Research*, 73(3), 361-367. <https://doi.org/10.2460/ajvr.73.3.361>

Di Salvo, A., Giorgi, M., Catanzaro, A., Deli, G., & Della Rocca, G. (2016). Pharmacokinetic profiles of meloxicam in turtles (*Trachemys scripta scripta*) after single oral, intracoelomic and intramuscular administrations. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 39(1), 102-105. <https://doi.org/10.1111/jvp.12254>

Dijkstra, B., Guzman, D. S.-M., Gustavsen, K., Owens, S. D., Hass, C., Kass, P. H., & Paul-Murphy, J. R. (2015). Renal, gastrointestinal, and hemostatic effects of oral administration of meloxicam to Hispaniolan Amazon parrots (*Amazona ventralis*). *American Journal of Veterinary Research*, 76(4), 308-317. <https://doi.org/10.2460/ajvr.76.4.308>

Divers, S. J. (2019). Hepatology. In S. J. Divers & S. J. Stahl (Eds.), *Mader's reptile and amphibian medicine and surgery* (3rd ed., pp. 1821-1871). Elsevier.

Divers, S. J., & Innis, C. J. (2019). Urology. In S. J. Divers, S. J. Stahl, & D. R. Mader (Eds.), *Mader's reptile and amphibian medicine and surgery* (3rd ed., pp. 1761-1820). Elsevier.

Divers, S. J., Papich, M., McBride, M., Stedman, N. L., Perpignan, D., Koch, T. F., Hernandez, S. M., Barron, G. H., Pethel, M., & Budsberg, S. C. (2010). Pharmacokinetics of meloxicam following intravenous and oral administration in green iguanas (*Iguana iguana*). *American Journal of Veterinary Research*, 71(11), 1277-1283. <https://doi.org/10.2460/ajvr.71.11.1277>

Divers, S. J., Stahl, S. J., & Camus, A. (2010). Evaluation of diagnostic coelioscopy including liver and kidney biopsy in freshwater turtles (*Trachemys scripta*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 41(4), 677-687. <https://doi.org/10.1638/2010-0080.1>

Duncan, A. (2012). Reptile and amphibian analgesia. In M. E. Fowler & R. E. Miller (Eds.), *Fowler's zoo and wild animal medicine: Current therapy* (7th ed., pp. 247-253). Elsevier.

Ellman, M. M. (1997). Hematology and plasma chemistry of the inland bearded dragon, *Pogona vitticeps*. *Bulletin of the Association of Reptilian and Amphibian Veterinarians*, 7(4), 10-12. <https://doi.org/10.5818/1076-3139.7.4.10>

Epstein, M., Rodan, I., Griffenhagen, G., Kadrlík, J., Petty, M., Robertson, S., & Simpson, W. (2015). 2015 AAHA/AAFP pain management guidelines for dogs and cats. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 51(2), 67-84. <https://doi.org/10.5326/JAAHA-MS-7331>

Epstein, M. E. (2015). Opioids. In J. S. Gaynor & W. W. Muir (Eds.), *Handbook of veterinary pain management* (3rd ed., pp. 161-195). Elsevier.

Eshar, D., Rooney, T. A., Gardhouse, S., & Beaufrère, H. (2021). Evaluation of the effects of a dexmedetomidine-midazolam-ketamine combination administered intramuscularly to captive red-footed tortoises (*Chelonoidis carbonaria*). *American Journal of Veterinary Research*, 82(11), 858-864. <https://doi.org/10.2460/ajvr.82.11.858>

Ferreira, T. H., Fink, D. M., & Mans, C. (2021). Evaluation of neuraxial administration of bupivacaine in bearded dragons (*Pogona vitticeps*). *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 48(5), 798-803. <https://doi.org/10.1016/j.vaa.2021.06.012>

Ferreira, T. H., & Mans, C. (2019). Evaluation of neuraxial anesthesia in bearded dragons (*Pogona vitticeps*). *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 46(1), 126-134. <https://doi.org/10.1016/j.vaa.2018.09.001>

Fink, D. M., Ferreira, T. H., & Mans, C. (2022). Neuraxial administration of morphine combined with lidocaine induces regional antinociception in inland bearded dragons (*Pogona vitticeps*). *American Journal of Veterinary Research*, 83(3), 212-217. <https://doi.org/10.2460/ajvr.21.08.0104>

Fleming, G. J., & Robertson, S. A. (2012). Assessments of thermal antinociceptive effects of butorphanol and human observer effect on quantitative evaluation of analgesia in green iguanas (*Iguana iguana*). *American Journal of Veterinary Research*, 73(10), 1507-1511. <https://doi.org/10.2460/ajvr.73.10.1507>

Food and Drug Administration. (2021). *Freedom of information summary of Ketofen*. Zoetis Inc. Retrieved November 5, 2021 from <https://animaldrugsatfda.fda.gov/adafda/app/search/public/document/downloadFoi/10864>

Forman, M. F., Beck, M. M., & Kachman, S. D. (1996). N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase as a marker of renal damage in hens. *Poultry Science*, 75(12), 1563-1568. <https://doi.org/10.3382/ps.0751563>

Forsyth, S. F., Guilford, W. G., Haslett, S. J., & Godfrey, J. (1998). Endoscopy of the gastroduodenal mucosa after carprofen, meloxicam and ketoprofen administration in dogs. *Journal of Small Animal Practice*, 39(9), 421-424. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.1998.tb03748.x>

Fox, S. M. (2014). *Pain management in small animal medicine* (1st ed.). Taylor and Francis.

Frei, S., Sanchez-Migallon Guzman, D., Kass, P. H., Giuffrida, M. A., & Mayhew, P. D. (2020). Evaluation of ventral and left lateral approach to coelioscopy in bearded dragons (*Pogona vitticeps*). *American Journal of Veterinary Research*, 81(3), 267-275. <https://doi.org/10.2460/ajvr.81.3.267>

Gamble, K. C. (2008). Plasma fentanyl concentrations achieved after transdermal fentanyl patch application in prehensile-tailed skinks, *Corucia zebrata*. *Journal of Herpetological Medicine and Surgery*, 18(3-4), 81-85. <https://doi.org/10.5818/1529-9651.18.3-4.81>

Gaynor, J. S., & Muir, W. W. (2015). Alternative drugs and novel therapies used to treat pain. In J. S. Gaynor & W. W. Muir (Eds.), *Handbook of veterinary pain management* (3rd ed., pp. 280-301). Elsevier.

Giannoudis, P. V., MacDonald, D. A., Matthews, S. J., Smith, R. M., Furlong, A. J., & De Boer, P. (2000). Nonunion of the femoral diaphysis: the influence of reaming and non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Journal of Bone and Joint Surgery*, 82-B(5), 655-658. <https://doi.org/10.1302/0301-620X.82B5.0820655>

Gibbons, P. M., Tell, L. A., Kass, P. H., & Christopher, M. M. (2006). Evaluation of the sensitivity and specificity of four laboratory tests for detection of occult blood in

cockatiel (*Nymphicus hollandicus*) excrement. *American Journal of Veterinary Research*, 67(8), 1326-1332. <https://doi.org/10.2460/ajvr.67.8.1326>

Giorgi, M., Lee, H.-K., Rota, S., Owen, H., De Vito, V., Demontis, M. P., & Varoni, M. V. (2015). Pharmacokinetic and pharmacodynamic assessments of tapentadol in yellow-bellied slider turtles (*Trachemys scripta scripta*) after a single intramuscular injection. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 24(3), 317-325. <https://doi.org/10.1053/j.jepm.2015.06.004>

Giorgi, M., Salvadori, M., De Vito, V., Owen, H., Demontis, M. P., & Varoni, M. V. (2015). Pharmacokinetic/pharmacodynamic assessments of 10 mg/kg tramadol intramuscular injection in yellow-bellied slider turtles (*Trachemys scripta scripta*). *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 38(5), 488-496. <https://doi.org/10.1111/jvp.12206>

Glew, A., Aviad, A. D., Keister, D. M., & Meo, N. J. (1996). Use of ketoprofen as an antipyretic in cats. *Canadian Veterinary Journal* 37(4), 222-225.

Grant, D. (2006). The nonsteroidal anti-inflammatory analgesic drugs (NSAIDs). In D. Grant (Ed.), *Pain management in small animals* (pp. 165-187). Elsevier.

Green, B. (1972). Aspects of renal function in the lizard *Varanus gouldii*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 43(4), 747-756. [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(72\)90144-2](https://doi.org/10.1016/0300-9629(72)90144-2)

Greenacre, C. B., Massi, K., Schumacher, J. P., & Harvey, R. C. (2008). Comparative antinociception of various opioids and non-steroidal anti-inflammatory medications versus saline in the bearded dragon (*Pogona vitticeps*) using electrostimulation. Proceedings of the Annual Conference of the Association of Reptilian and Amphibian Veterinarians, Los Angeles, CA, États-Unis.

Greenacre, C. B., Takle, G., Schumacher, J. P., Klaphake, E. K., & Harvey, R. C. (2006). Comparative antinociception of morphine, butorphanol, and buprenorphine versus saline in the green iguana, *Iguana iguana*, using electrostimulation. *Journal of Herpetological Medicine and Surgery*, 16(3), 88-92. <https://doi.org/10.5818/1529-9651.16.3.88>

Gregory, T. M., Harms, C. A., Gorges, M. A., Lewbart, G. A., & Papich, M. G. (2021). Pharmacokinetics of ketorolac in juvenile loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) after a single intramuscular injection. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 44(4), 583-589. <https://doi.org/10.1111/jvp.12952>

Grisneaux, E., Pibarot, P., Dupuis, J., & Blais, D. (1999). Comparaison of ketoprofen and carprofen administered prior to orthopedic surgery for control of postoperative pain in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 215(8), 1105-1110.

Hall, J. A., Yerramilli, M., Obare, E., Almes, K., & Jewell, D. E. (2016). Serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine in dogs with naturally occurring chronic kidney disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 30(3), 794-802. <https://doi.org/10.1111/jvim.13942>

Hall, J. A., Yerramilli, M., Obare, E., & Jewell, D. E. (2014). Comparison of serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine as kidney function biomarkers in cats with chronic kidney disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 28(6), 1676-1683. <https://doi.org/10.1111/jvim.12445>

Hanson, P. D., & Maddison, J. E. (2008). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and chondroprotective agents. In J. E. Maddison, S. W. Page, & D. Church (Eds.), *Small animal clinical pharmacology* (2nd ed., pp. 287-308). Elsevier.

Harms, C. A., Ruterbories, L. K., Stacy, N. I., Christiansen, E. F., Papich, M. G., Lynch, A. M., Barratclough, A., & Serrano, M. E. (2021). Safety of multiple-dose intramuscular ketoprofen treatment in loggerhead turtles (*Caretta caretta*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 52(1), 126-132. <https://doi.org/10.1638/2020-0159>

Harvey, J. W. (2012). Evaluation of hemostasis: coagulation and platelet disorders. In J. W. Harvey (Ed.), *Veterinary hematology: a diagnostic guide and color atlas* (pp. 191-233). Elsevier.

Hawkins, S. J., Cox, S., Yaw, T. J., & Sladky, K. (2019). Pharmacokinetics of subcutaneously administered hydromorphone in bearded dragons (*Pogona vitticeps*) and red-eared slider turtles (*Trachemys scripta elegans*). *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 46(3), 352-359. <https://doi.org/10.1016/j.vaa.2018.12.002>

Heatley, J. J., & Russell, K. E. (2019). Clinical chemistry. In S. J. Divers & S. J. Stahl (Eds.), *Mader's reptile and amphibian medicine and surgery* (3rd ed., pp. 993-1040). Elsevier.

Hernandez-Divers, S. J., & Innis, C. J. (2006). Renal disease in reptiles: diagnosis and clinical management. In D. R. Mader (Ed.), *Reptile medicine and surgery* (2nd ed., pp. 878-892). Elsevier.

Hernandez-Divers, S. J., Stahl, S. J., & Farrell, R. (2009). An endoscopic method for identifying sex of hatchling Chinese box turtles and comparison of general versus local anesthesia for coelioscopy. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 234(6), 800-804. <https://doi.org/10.2460/javma.234.6.800>

Hernandez-Divers, S. J., Stahl, S. J., McBride, M., & Stedman, N. L. (2007). Evaluation of an endoscopic liver biopsy technique in green iguanas. *Journal of the American*

*Veterinary Medical Association*, 230(12), 1849-1853.  
<https://doi.org/10.2460/javma.230.12.1849>

Hernandez-Divers, S. J., Stahl, S. J., Stedman, N. L., Hernandez-Divers, S. M., Schumacher, J., Hanley, C. S., Wilson, H., Vidyashankar, A. N., Zhao, Y., & Rumbleha, W. K. (2005). Renal evaluation in the healthy green iguana (*Iguana iguana*): assessment of plasma biochemistry, glomerular filtration rate, and endoscopic biopsy. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 36(2), 155-168. <https://doi.org/10.1638/03-120.1>

Holz, P., Barker, I. K., Burger, J. P., Crawshaw, G. J., & Conlon, P. D. (1997). The effect of the renal portal system on pharmacokinetic parameters in the red-eared slider (*Trachemys scripta elegans*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 28(4), 386-393.

Humble, R. J., & Glover, J. S. (1950). Effect of intramuscular injections of heparin on the blood clotting time and bleeding time of chickens. *Canadian Journal of Comparative Medicine and Veterinary Science*, 14(4), 162-165.

Hunskar, S., & Hole, K. (1987). The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. *Pain*, 30(1), 103-114. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(87\)90088-1](https://doi.org/10.1016/0304-3959(87)90088-1)

Hussain, I., Khan, M. Z., Khan, A., Javed, I., & Saleemi, M. K. (2008). Toxicological effects of diclofenac in four avian species. *Avian Pathology*, 37(3), 315-321. <https://doi.org/10.1080/03079450802056439>

Innis, C., Kennedy, A., McGowan, J. P., Buchweitz, J. P., & McNally, K. (2016). Glomerular filtration rates of naturally cold-stunned Kemp's ridley turtles (*Lepidochelys kempii*): Comparison of initial vs. convalescent values. *Journal of Herpetological Medicine and Surgery*, 26(3-4), 100-103. <https://doi.org/10.5818/16-04-078.1>

James, L. E., Williams, C. J. A., Bertelsen, M. F., & Wang, T. (2017). Evaluation of feeding behavior as an indicator of pain in snakes. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 48(1), 196-199. <https://doi.org/10.1638/2016-0064.1>

Kanui, T. I., Hole, K., & Miaron, J. O. (1990). Nociception in crocodiles: capsaicin instillation, formalin and hot plate tests. *Zoological Science*, 7(1), 537-540.

Karklus, A. A., Sladky, K. K., & Johnson, S. M. (2021). Respiratory and antinociceptive effects of dexmedetomidine and doxapram in ball pythons (*Python regius*). *American Journal of Veterinary Research*, 82(1), 11-21. <https://doi.org/10.2460/ajvr.82.1.11>

Kennedy, A., Innis, C., & Rumbleha, W. (2012). Determination of glomerular filtration rate in juvenile Kemp's ridley turtles (*Lepidochelys kempii*) using iohexol clearance, with preliminary comparison of clinically healthy turtles vs. those with renal disease. *Journal*

of *Herpetological Medicine and Surgery*, 22(1), 25-29. <https://doi.org/10.5818/1529-9651-22.1-2.25>

Kharbush, R. J., Gutwillig, A., Hartzler, K. E., Kimyon, R. S., Gardner, A. N., Abbott, A. D., Cox, S. K., Watters, J. J., Sladky, K. K., & Johnson, S. M. (2017). Antinociceptive and respiratory effects following application of transdermal fentanyl patches and assessment of brain  $\mu$ -opioid receptor mRNA expression in ball pythons. *American Journal of Veterinary Research*, 78(7), 785-795. <https://doi.org/10.2460/ajvr.78.7.785>

Kinney, M. E., Johnson, S. M., & Sladky, K. K. (2011). Behavioral evaluation of red-eared slider turtles (*Trachemys scripta elegans*) administered either morphine or butorphanol following unilateral gonadectomy. *Journal of Herpetological Medicine and Surgery*, 21(2-3), 54-62. <https://doi.org/10.2460/javma.243.6.882>

Kleinschmidt, L. M., Hanley, C. S., Sahrman, J. M., & Padilla, L. R. (2018). Randomized controlled trial comparing the effects of alfaxolone and ketamine hydrochloride in the Haitian giant galliwasp (*Celestus warreni*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 49(2), 283-290. <https://doi.org/10.1638/2017-0164.1>

Knafo, S. E., & Karlin, W. M. (2019). Orthopedic principles and external coaptation. In S. J. Divers & S. J. Stahl (Eds.), *Mader's reptile and amphibian medicine and surgery* (3rd ed., pp. 3024-3032). Elsevier.

Knapp, D. W., Richardson, R. C., Chan, T. C. K., Bottoms, G. D., Widmer, W. R., DeNicola, D. B., Teclaw, R., Bonney, P. L., & Kuczek, T. (1994). Piroxicam therapy in 34 dogs with transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 8(4), 273-278. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.1994.tb03232.x>

Koh, T. J., & DiPietro, L. A. (2011). Inflammation and wound healing: the role of the macrophage. *Expert Reviews in Molecular Medicine*, 13, e23. <https://doi.org/10.1017/S1462399411001943>

Kummrow, M. S., Tseng, F., Hesse, L., & Court, M. (2008). Pharmacokinetics of buprenorphine after single-dose subcutaneous administration in red-eared sliders (*Trachemys scripta elegans*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 39(4), 590-595. <https://doi.org/10.1638/2008-0033.1>

Lai, O. R., Di Bello, A., Soloperto, S., Freggi, D., Marzano, G., Cavaliere, L., & Crescenzo, G. (2015). Pharmacokinetic behavior of meloxicam in loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) after intramuscular and intravenous administration. *Journal of Wildlife Diseases*, 51(2), 509-512. <https://doi.org/10.7589/2014-03-069>

Le Bars, D., Gozariu, M., & Cadden, S. W. (2001). Animal models of nociception. *Pharmacological Reviews*, 53(4), 597-652.

Leal, W. P., Carregaro, A. B., Bressan, T. F., Bisetto, S. P., Melo, C. F., & Sladky, K. K. (2017). Antinociceptive efficacy of intramuscular administration of morphine sulfate and butorphanol tartrate in tegus (*Salvator merianae*). *American Journal of Veterinary Research*, 78(9), 1019-1024. <https://doi.org/10.2460/ajvr.78.9.1019>

Lemke, K. A., Runyon, C. L., & Horney, B. S. (2002). Effects of preoperative administration of ketoprofen on whole blood platelet aggregation, buccal mucosal bleeding time, and hematologic indices in dogs undergoing elective ovariohysterectomy. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 220(12), 1818-1822. <https://doi.org/10.2460/javma.2002.220.1818>

Liang, Y.-F., Terashima, S.-I., & Zhu, A.-Q. (1995). Distinct morphological characteristics of touch, temperature, and mechanical nociceptive neurons in the crotaline trigeminal ganglia. *Journal of Comparative Neurology*, 360(4), 621-633. <https://doi.org/10.1002/cne.903600407>

Lindberg, I., & White, L. (1986). Reptilian enkephalins: implications for the evolution of proenkephalin. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 245(1), 1-7. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(86\)90183-9](https://doi.org/10.1016/0003-9861(86)90183-9)

Luna, S. P., Basilio, A. C., Steagall, P. V., Machado, L. P., Moutinho, F. Q., Takahira, R. K., & Brandao, C. V. (2007). Evaluation of adverse effects of long-term oral administration of carprofen, etodolac, flunixin meglumine, ketoprofen, and meloxicam in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 68(3), 258-264. <https://doi.org/10.2460/ajvr.68.3.258>

Machin, K. L., Tellier, L. A., Lair, S., & Livingston, A. (2001). Pharmacodynamics of flunixin and ketoprofen in mallard ducks (*Anas platyrhynchos*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 32(2), 222-229. [https://doi.org/10.1638/1042-7260\(2001\)032\[0222:pofaki\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1638/1042-7260(2001)032[0222:pofaki]2.0.co;2)

Mader, D. R., Bennett, R. A., Funk, R. S., Fitzgerald, K. T., Vera, R., & Hernandez-Divers, S. J. (2006). Surgery. In D. R. Mader (Ed.), *Reptile medicine and surgery* (2nd ed., pp. 581-630). Elsevier.

Makau, C. M., Towett, P. K., Abelson, K. S. P., & Kanui, T. I. (2014). Intrathecal administration of clonidine or yohimbine decreases the nociceptive behavior caused by formalin injection in the marsh terrapin (*Pelomedusa subrufa*). *Brain and Behavior*, 4(6), 850-857. <https://doi.org/10.1002/brb3.287>

Makau, C. M., Towett, P. K., Abelson, K. S. P., & Kanui, T. I. (2017). Modulation of formalin-induced pain-related behaviour by clonidine and yohimbine in the Speke's

hinged tortoise (*Kinixys spekii*). *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 40(5), 439-446. <https://doi.org/10.1111/jvp.12374>

Mans, C. (2014). Clinical technique: Intrathecal drug administration in turtles and tortoises. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 23(1), 67-70. <https://doi.org/10.1053/j.jepm.2013.11.011>

Mans, C., Lahner, L. L., Baker, B. B., Johnson, S. M., & Sladky, K. K. (2012). Antinociceptive efficacy of buprenorphine and hydromorphone in red-eared slider turtles (*Trachemys scripta elegans*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 43(3), 662-665. <https://doi.org/10.1638/2011-0260r.1>

Mason, A. K., Perry, S. M., & Mitchell, M. A. (2022). Plasma and tissue enzyme activities of banded water snakes (*Nerodia fasciata*) and diamondback water snakes (*Nerodia rhombifer*). *American Journal of Veterinary Research*, 83(1), 5-14. <https://doi.org/10.2460/ajvr.21.08.0018>

Mathews, K. A., Pettifer, G., Foster, R., & McDonell, W. (2001). Safety and efficacy of preoperative administration of meloxicam, compared with that of ketoprofen and butorphanol in dogs undergoing abdominal surgery. *American Journal of Veterinary Research*, 62(6), 882-888. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2001.62.882>

Mauk, M. D., Olson, R. D., G.J., L., & Olson, G. A. (1981). Tonic immobility produces hyperalgesia and antagonizes morphine analgesia. *American Association for the Advancement of Science*, 213(4505), 353-354. <https://doi.org/10.1126/science.7244620>

McLean, M. K., & Khan, S. A. (2018). Toxicology of frequently encountered nonsteroidal anti-inflammatory drugs in dogs and cats: an update. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 48(6), 969-984. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2018.06.003>

Mohan, K., Jayakumar, K., Narayanaswamy, H. D., Manafi, M., & Pavithra, B. H. (2012). An initial safety assessment of hepatotoxic and nephrotoxic potential of intramuscular ketoprofen at single repetitive dose level in broiler chickens. *Poultry Science*, 91(6), 1308-1314. <https://doi.org/10.3382/ps.2011-01929>

Monteiro, B. P., Lambert, C., Bianchi, E., Genevois, J. P., Soldani, G., & Troncy, E. (2019). Safety and efficacy of reduced dosage ketoprofen with or without tramadol for long-term treatment of osteoarthritis in dogs: a randomized clinical trial. *BMC Veterinary Research*, 15(1), 213. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-1960-3>

Monteiro-Steagall, B. P., Steagall, P. V., & Lascelles, B. D. (2013). Systematic review of nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced adverse effects in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 27(5), 1011-1019. <https://doi.org/10.1111/jvim.12127>

Montesinos, A., Ardiaca, M., Juan-Salls, C., & Tesouro, M. A. (2015). Effects of meloxicam on hematologic and plasma biochemical analyte values and results of histologic examination of kidney biopsy specimens of african grey parrots (*Psittacus erithacus*). *Journal of Avian Medicine and Surgery*, 29(1), 1-8. <https://doi.org/10.1647/2013-056>

Monticelli, P., Ronaldson, H. L., Hutchinson, J. R., Cuff, A. R., d'Ovidio, D., & Adami, C. (2019). Medetomidine-ketamine-sevoflurane anaesthesia in juvenile Nile crocodiles (*Crocodylus niloticus*) undergoing experimental surgery. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 46(1), 84-89. <https://doi.org/10.1016/j.vaa.2018.09.004>

Mosley, C. (2011). Pain and nociception in reptiles. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, 14(1), 45-60. <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2010.09.009>

Mosley, C. (2015). Reptile-specific considerations. In J. S. Gaynor & W. W. Muir (Eds.), *Handbook of veterinary pain management* (3rd ed., pp. 555-566). Elsevier.

Mosley, C. A. E., Dyson, D., & Smith, D. A. (2003). Minimum alveolar concentration of isoflurane in green iguanas and the effect of butorphanol on minimum alveolar concentration. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 222(11), 1559-1564. <https://doi.org/10.2460/javma.2003.222.1559>

Mulcahy, D. M., Tuomi, P., & Larsen, R. S. (2003). Differential mortality of male spectacled eiders (*Somateria fischeri*) and king eiders (*Somateria spectabilis*) subsequent to anesthesia with propofol, bupivacaine, and ketoprofen. *Journal of Avian Medicine and Surgery*, 17(3), 117-123. <https://doi.org/10.1647/2001-024>

Murnaghan, M., Li, G., & Marsh, D. R. (2006). Nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced fracture nonunion: an inhibition of angiogenesis? *Journal of Bone and Joint Surgery*, 88-A(3), 140-147. <https://doi.org/10.2106/JBJS.F.00454>

Nabity, M. B., Lees, G. E., Boggess, M. M., Yerramilli, M., Obare, E., Rakitin, A., Aguiar, J., & Relford, R. (2015). Symmetric dimethylarginine assay validation, stability, and evaluation as a marker for the early detection of chronic kidney disease in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 29(4), 1036-1044. <https://doi.org/10.1111/jvim.12835>

Nabity, M. B., Lees, G. E., Cianciolo, R., Boggess, M. M., Steiner, J. M., & Suchodolski, J. S. (2012). Urinary biomarkers of renal disease in dogs with X-linked hereditary nephropathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 26(2), 282-293. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2012.00891.x>

Naidoo, V., Venter, L., Wolter, K., Taggart, M., & Cuthbert, R. (2010). The toxicokinetics of ketoprofen in *Gyps coprotheres*: toxicity due to zero-order metabolism. *Archives of Toxicology*, 84(10), 761-766. <https://doi.org/10.1007/s00204-010-0521-0>

Ng, T. B., Hon, W. K., Cheng, C. H. K., & Su, B. (1986). Evidence for the presence of adrenocorticotrophic and opiate-like hormones in the brains of two sea snakes, *Hydrophis cyanocinctus* and *Lapemis hardwickii*. *General and Comparative Endocrinology*, 63(1), 31-37. [https://doi.org/10.1016/0016-6480\(86\)90178-4](https://doi.org/10.1016/0016-6480(86)90178-4)

Ng, T. B., Ng, A. S. L., & Wong, C. C. (1990). Adrenocorticotropin- and beta-endorphin-like substances in brains of the freshwater snake *Ptyas mucosa*. *Biochemistry and Cell Biology*, 68(7-8), 1012-1018. <https://doi.org/10.1139/o90-149>

Norton, T. M., Clauss, T., Sommer, R., Stowell, S., Kaylor, M., Thistle, C., & Cox, S. (2021). Pharmacokinetic behavior of meloxicam in loggerhead (*Caretta Caretta*), Kemp's ridley (*Lepidochelys Kempii*), and green (*Chelonia Mydas*) sea turtles after subcutaneous administration. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 52(1), 295-299. <https://doi.org/10.1638/2019-0143>

Norton, T. M., Cox, S., Nelson, S. E., Jr., Kaylor, M., Thomas, R., Hupp, A., & Sladky, K. K. (2015, Jun). Pharmacokinetics of tramadol and O-Desmethyltramadol in loggerhead sea turtles (*Caretta Caretta*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 46(2), 262-265. <https://doi.org/10.1638/2014-0158R1.1>

Oaks, J. L., & Meteyer, C. U. (2012). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in raptors. In M. E. Fowler & R. E. Miller (Eds.), *Fowler's zoo and wild animal medicine: Current therapy* (7th ed., pp. 349-355). Elsevier.

Olesen, M. G., Bertelsen, M. F., Perry, S. F., & Wang, T. (2008). Effects of preoperative administration of butorphanol or meloxicam on physiologic responses to surgery in ball pythons. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 233(12), 1883-1888. <https://doi.org/10.2460/javma.233.12.1883>

Origgi, F. C. (2018). Lacertilia. In K. Terio, D. Mcaloose, & J. St-Leger (Eds.), *Pathology of wildlife and zoo animals* (1st ed., pp. 871-895). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-805306-5.00036-5>

Palocz, O., Gal, J., & Csiko, G. (2016). Differences in NSAID toxicity in four avian species. *Journal of Veterinary Science and Medical Diagnosis*, 5(2). <https://doi.org/10.4172/2325-9590.1000193>

Parisien, M., Lima, L. V., Dagostino, C., El-Hachem, N., Drury, G. L., Grant, A. V., Huising, J., Verma, V., Meloto, C. B., Silva, J. R., Dutra, G. G. S., Markova, T., Dang, H., Tessier, P. A., Slade, G. D., Nackley, A. G., Ghasemlou, N., Mogil, J. S., Allegri, M., & Diatchenko, L.

(2022). Acute inflammatory response via neutrophil activation protects against the development of chronic pain. *Science Translational Medicine*, 14(644), eabj9954. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abj9954>

Parkinson, L., Kierski, K., & Mans, C. (2021). Coagulopathy secondary to chronic hepatopathy in three lizards. *Journal of Herpetological Medicine and Surgery*, 31(4), 296-301. <https://doi.org/10.5818/JHMS-D-20-00007>

Pereira, M. E., & Werther, K. (2007). Evaluation of the renal effects of flunixin meglumine, ketoprofen and meloxicam in budgerigars (*Melopsittacus undulatus*). *Veterinary Record*, 160(24), 844-846. <https://doi.org/10.1136/vr.160.24.844>

Perry, S. M., & Mitchell, M. A. (2019). Routes of administration In S. J. Divers, S. J. Stahl, & D. R. Mader (Eds.), *Mader's reptile and amphibian medicine and surgery* (3rd ed., pp. 3093-3117). Elsevier.

Perry, S. M., & Nevarez, J. G. (2018). Pain and its control in reptiles. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, 21(1), 1-16. <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2017.08.001>

Pibarot, P., Dupuis, J., Grisneaux, E., Cuvellez, S., Planté, J., Beauregard, G., Bonneau, N. H., Bouffard, J., & Blais, D. (1997). Comparison of ketoprofen, oxymorphone hydrochloride, and butorphanol in the treatment of postoperative pain in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 211(4), 438-444.

Pocar, P., Scarpa, P., Berrini, A., Cagnardi, P., Rizzi, R., & Borromeo, V. (2019). Diagnostic potential of simplified methods for measuring glomerular filtration rate to detect chronic kidney disease in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 33(5), 2105-2116. <https://doi.org/10.1111/jvim.15573>

Pypendop, B. H. (2015). Alpha2-agonists. In J. S. Gaynor & W. W. Muir (Eds.), *Handbook of veterinary pain management* (3rd ed., pp. 196-215). Elsevier.

Raja, S. N., Carr, D. B., Cohen, M., Finnerup, N. B., Flor, H., Gibson, S., Keefe, F. J., Mogil, J. S., Ringkamp, M., Sluka, K. A., Song, X. J., Stevens, B., Sullivan, M. D., Tutelman, P. R., Ushida, T., & Vader, K. (2020). The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: concepts, challenges, and compromises. *Pain*, 161(9), 1976-1982. <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000001939>

Ranucci, M., & Baryshnikova, E. (2020). Sensitivity of viscoelastic tests to platelet function. *Journal of Clinical Medicine*, 9(1), 189. <https://doi.org/10.3390/jcm9010189>

Rattner, B. A., Whitehead, M. A., Gasper, G., Meteyer, C. U., Link, W. A., Taggart, M. A., Meharg, A. A., Pattee, O. H., & Pain, D. J. (2008). Apparent tolerance of turkey vultures

(*Cathartes aura*) to the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27(11), 2341-2345. <https://doi.org/10.1897/08-123.1>

Raweewan, N., Chomcheun, T., Laovechprasit, W., Jongkolpath, O., Klangkaew, N., Phaochoosak, N., Giorgi, M., Poapolathep, A., & Poapolathep, S. (2020). Pharmacokinetics of tolfenamic acid in green sea turtles (*Chelonia mydas*) after intravenous and intramuscular administration. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 43(6), 527-532. <https://doi.org/10.1111/jvp.12885>

Raweewan, N., Laovechprasit, W., Giorgi, M., Chomcheun, T., Klangkaew, N., Imsilp, K., Poapolathep, A., & Poapolathep, S. (2020). Pharmacokinetics of tolfenamic acid in Hawksbill turtles (*Eretmochelys imbricata*) after single intravenous and intramuscular administration. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 43(2), 135-140. <https://doi.org/10.1111/jvp.12823>

Read, M. R. (2004). Evaluation of the use of anesthesia and analgesia in reptiles. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 224(4), 547-552. <https://doi.org/10.2460/javma.2004.224.547>

Reiner, A. (1987). The distribution of proenkephalin-derived peptides in the central nervous system of turtles. *Journal of Comparative Neurology*, 259(1), 65-91. <https://doi.org/10.1002/cne.902590106>

Rice, J. E., & Ihle, S. L. (1994). Effects of diet on fecal occult blood testing in healthy dogs. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 58(2), 134-137.

Rivera, S., Divers, S. J., Knafo, S. E., Martinez, P., Cayot, L. J., Tapia-Aguilera, W., & Flanagan, J. (2011). Sterilisation of hybrid Galapagos tortoises (*Geochelone nigra*) for island restoration. Part 2: phallectomy of males under intrathecal anaesthesia with lidocaine. *Veterinary Record*, 168(3), 78-81. <https://doi.org/10.1136/vr.c6361>

Roberts, J. S., & Schmidt-Nielsen, B. (1966). Renal ultrastructure and excretion of salt and water by three terrestrial lizards. *American Journal of Physiology*, 211(1), 476-486. <https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1966.211.2.476>

Rockwell, K., & Mitchell, M. A. (2019). Antiinflammatory therapy. In S. J. Divers, S. J. Stahl, & D. R. Mader (Eds.), *Mader's reptile and amphibian medicine and surgery* (3rd ed., pp. 3176-3183). Elsevier.

Rodriguez, P., Paul-Murphy, J. R., Knych, H. K., Drazenovich, T. L., & Hawkins, M. G. (2021). Pharmacokinetics of grapiprant administered to red-tailed hawks (*Buteo jamaicensis*) after food was withheld for 24 hours. *American Journal of Veterinary Research*, 82(11), 912-919. <https://doi.org/10.2460/ajvr.82.11.912>

- Royal, L. W., Lascelles, B. D., Lewbart, G. A., Correa, M. T., & Jones, S. L. (2012). Evaluation of cyclooxygenase protein expression in traumatized versus normal tissues from eastern box turtles (*Terrapene carolina carolina*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 43(2), 289-295. <https://doi.org/10.1638/2011-0154.1>
- Rozen, P., Knaai, J., & Samuel, Z. (1999). Eliminating the need for dietary restrictions when using a sensitive guaiac fecal occult blood test. *Digestive Diseases and Sciences*, 44(4), 756-760. <https://doi.org/10.1023/a:1026618010312>
- Rush, E. M., Wernick, M., Beaufrère, H., Ammersbach, M., Vergneau-Grosset, C., Stacy, N., Pendl, H., Wellehan Jr, J. F. X., Warren, K., Le Souef, A., Coe, C., & Klandorf, H. (2016). Advances in clinical pathology and diagnostic medicine. In B. L. Speer (Ed.), *Current therapy in avian medicine and surgery* (1st ed., pp. 461-530). Elsevier.
- Sadler, R. A., Schumacher, J. P., Rathore, K., Newkirk, K. M., Cole, G., Seibert, R., & Cekanova, M. (2016). Evaluation of the role of the cyclooxygenase signaling pathway during inflammation in skin and muscle tissues of ball pythons (*Python regius*). *American Journal of Veterinary Research*, 77(5), 487-494. <https://doi.org/10.2460/ajvr.77.5.487>
- Sato, R., Soeta, S., Miyazaki, M., Syuto, B., Sato, J., Miyake, Y., Yasuda, J., Okada, K., & Naito, Y. (2002). Clinical availability of urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase index in dogs with urinary diseases. *Journal of Veterinary Medical Science*, 64(4), 361-365. <https://doi.org/10.1292/jvms.64.361>
- Scanes, C. G. (2015). Blood. In C. G. Scanes (Ed.), *Sturkie's avian physiology* (6th ed., pp. 167-191). Elsevier.
- Schilliger, L., Vergneau-Grosset, C., & Desmarchelier, M. R. (2021). Clinical reptile behavior. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, 24(1), 175-195. <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2020.09.008>
- Schumacher, J., Lillywhite, H. B., Norman, W. M., & Jacobson, E. R. (1997). Effects of ketamine HCl on cardiopulmonary function in snakes. *Copeia*, 1997(2), 395-400. <https://doi.org/10.2307/1447760>
- Schwartz, G. J., Furth, S., Cole, S. R., Warady, B., & Munoz, A. (2006). Glomerular filtration rate via plasma iohexol disappearance: pilot study for chronic kidney disease in children. *Kidney International*, 69(11), 2070-2077. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5000385>
- Seebacher, F., & Franklin, C. E. (2003). Prostaglandins are important in thermoregulation of a reptile (*Pogona vitticeps*). *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 270, S50-S53. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2003.0007>

Selleri, P., & Hernandez-Divers, S. J. (2006). Renal diseases of reptiles. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, 9(1), 161-174. <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2005.10.008>

Shoemaker, V. H., Licht, P., & Dawson, W. R. (1966). Effects of temperature on kidney function in the lizard *Tiliqua rugosa*. *Physiological Zoology*, 39(3), 244-252. <https://doi.org/10.1086/physzool.39.3.30152851>

Siegel, S., & Castellan, N. J. (1998). *Nonparametric statistics for the behavioral sciences*. McGraw-Hill.

Sinatra, M. A., St. John, D. J. B., & Young, G. P. (1999). Interference of plant peroxidases with guaiac-based fecal occult blood tests is avoidable. *Clinical Chemistry*, 45(1), 123-126. <https://doi.org/10.1093/clinchem/45.1.123>

Sinclair, K. M., Church, M. E., Farver, T. B., Lowenstine, L. J., Owens, S. D., & Paul-Murphy, J. (2012). Effects of meloxicam on hematologic and plasma biochemical analysis variables and results of histologic examination of tissue specimens of Japanese quail (*Coturnix japonica*). *American Journal of Veterinary Research*, 73(11), 1720-1727. <https://doi.org/10.2460/ajvr.73.11.1720>

Sladky, K. K. (2014). Analgesia. In D. R. Mader & S. J. Divers (Eds.), *Current therapy in reptile medicine and surgery* (1st ed., pp. 217-228). Elsevier.

Sladky, K. K., Kinney, M. E., & Johnson, S. M. (2008). Analgesic efficacy of butorphanol and morphine in bearded dragons and corn snakes. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 233(2), 267-273. <https://doi.org/10.2460/javma.233.2.267>

Sladky, K. K., Kinney, M. E., & Johnson, S. M. (2009). Effects of opioid receptor activation on thermal antinociception in red-eared slider turtles (*Trachemys scripta*). *American Journal of Veterinary Research*, 70(9), 1072-1078. <https://doi.org/10.2460/ajvr.70.9.1072>

Sladky, K. K., Miletic, V., Paul-Murphy, J., Kinney, M. E., Dallwig, R. K., & Johnson, S. M. (2007). Analgesic efficacy and respiratory effects of butorphanol and morphine in turtles. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 230(9), 1356-1362. <https://doi.org/10.2460/javma.230.9.1356>

Sleeman, J. M., & Gaynor, J. (2000). Sedative and cardiopulmonary effects of medetomidine and reversal with atipamezole in desert tortoises (*Gopherus agassizii*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 31(1), 28-35. [https://doi.org/10.1638/1042-7260\(2000\)031\[0028:saceom\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1638/1042-7260(2000)031[0028:saceom]2.0.co;2)

Slingsby, L. S., & Waterman-Pearson, A. E. (1998). Comparison of pethidine, buprenorphine and ketoprofen for postoperative analgesia after ovariohysterectomy in the cat. *Veterinary Record*, *143*(7), 185-189. <https://doi.org/10.1136/vr.143.7.185>

Smets, P. M. Y., Meyer, E., Maddens, B. E. J., Duchateau, L., & Daminet, S. (2010). Urinary markers in healthy young and aged dogs and dogs with chronic kidney disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, *24*(1), 65-72. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2009.0426.x>

Sorenmo, K. U., Goldschmidt, M. H., Shofer, F. S., Goldkamp, C., & Ferracone, J. (2004). Evaluation of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 expression and the effect of cyclooxygenase inhibitors in canine prostatic carcinoma. *Veterinary and Comparative Oncology*, *2*(1), 13-23. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5810.2004.00035.x>

Spadola, F., Morici, M., & Knotek, Z. (2015). Combination of lidocaine/prilocaine with tramadol for short time anaesthesia-analgesia in chelonians: 18 cases. *Acta Veterinaria Brno*, *84*(1), 71-75. <https://doi.org/10.2754/avb201585010071>

Stahl, S. J., & DeNardo, D. F. (2019). Theriogenology. In S. J. Divers & S. J. Stahl (Eds.), *Mader's reptile and amphibian medicine and surgery* (3rd ed., pp. 849-893). Elsevier.

Strahl-Heldreth, D. E., Clark-Price, S. C., Keating, S. C. J., Escalante, G. C., Graham, L. F., Chinnadurai, S. K., & Schaeffer, D. J. (2019). Effect of intracoelomic administration of alfaxalone on the righting reflex and tactile stimulus response of common garter snakes (*Thamnophis sirtalis*). *American Journal of Veterinary Research*, *80*(2), 144-151. <https://doi.org/10.2460/ajvr.80.2.144>

Summa, N. M., Guzman, D. S.-M., Larrat, S., Troncy, E., Bird, D. M., Lair, S., & Fitzgerald, G. (2017). Evaluation of high dosages of oral meloxicam in American kestrels (*Falco sparverius*). *Journal of Avian Medicine and Surgery*, *31*(2), 108-116. <https://doi.org/10.1647/2015-150>

Swan, G. E., Cuthbert, R., Quevedo, M., Green, R. E., Pain, D. J., Bartels, P., Cunningham, A. A., Duncan, N., Meharg, A. A., Oaks, J. L., Parry-Jones, J., Shultz, S., Taggart, M. A., Verdoorn, G., & Wolter, K. (2006). Toxicity of diclofenac to *Gyps* vultures. *Biology Letters*, *2*(2), 279-282. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2005.0425>

Swarup, D., Patra, R., Prakash, V., Cuthbert, R., Das, D., Avari, P., Pain, D., Green, R., Sharma, A., Saini, M., & Taggart, M. (2007). Safety of meloxicam to critically endangered *Gyps* vultures and other scavenging birds in India. *Animal Conservation*, *10*(2), 192-198. <https://doi.org/10.1111/j.1469-1795.2006.00086.x>

Talcott, P. A., & Gwaltney-Brant, S. M. (2013). Nonsteroidal antiinflammatories. In M. E. Peterson & P. A. Talcott (Eds.), *Small animal toxicology* (3rd ed., pp. 687-708). Elsevier.

Tamukai, K., Takami, Y., Akabane, Y., Kanazawa, Y., & Une, Y. (2011). Plasma biochemical reference values in clinically healthy captive bearded dragons (*Pogona vitticeps*) and the effects of sex and season. *Veterinary Clinical Pathology*, 40(3), 368-373. <https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2011.00329.x>

ten Donkelaar, H. J., & de Boer-van Huizen, R. (1987). A possible pain control system in a non-mammalian vertebrate (a lizard, *Gekko gecko*). *Neuroscience Letters*, 83(1-2), 65-70. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(87\)90217-5](https://doi.org/10.1016/0304-3940(87)90217-5)

Thompson, K. A., Papich, M. G., Higgins, B., Flanagan, J., Christiansen, E. F., & Harms, C. A. (2018). Ketoprofen pharmacokinetics of R- and S-isomers in juvenile loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) after single intravenous and single- and multidose intramuscular administration. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 41(2), 340-348. <https://doi.org/10.1111/jvp.12460>

Trnkova, S., Knotkova, Z., Hrda, A., & Knotek, Z. (2007). Effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs on the blood profile in the green iguana (*Iguana iguana*). *Veterinarni Medicina*, 52(11), 507-511. <https://doi.org/10.17221/2061-vetmed>

Tsiklauri, N., Nozadze, I., Gurtskaia, G., & Tsagareli, M. G. (2017). Antinociceptive tolerance to NSAIDs in the rat formalin test is mediated by the opioid mechanism. *Pharmacological Reports*, 69(1), 168-175. <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2016.10.004>

Tsuchida, A., Itoi, T., Kasuya, K., Endo, M., Katsumata, K., Aoki, T., Suzuki, M., & Aoki, T. (2005). Inhibitory effect of meloxicam, a cyclooxygenase-2 inhibitor, on *N*-nitrosobis (2-oxopropyl) amine induced biliary carcinogenesis in Syrian hamsters. *Carcinogenesis*, 26(11), 1922-1928. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgi149>

Tuffli, S. P., Gaschen, F., & Neiger, R. (2001). Effect of dietary factors on the detection of fecal occult blood in cats. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 13(2), 177-179. <https://doi.org/10.1177/104063870101300218>

Tuttle, A. D., Papich, M., Lewbart, G. A., Christian, S., Gunkel, C., & Harms, C. A. (2006). Pharmacokinetics of ketoprofen in the green iguana (*Iguana iguana*) following single intravenous and intramuscular injections. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 37(4), 567-570. <https://doi.org/10.1638/06-029.1>

Uney, K., Altan, F., Aboubakr, M., Cetin, G., & Dik, B. (2016). Pharmacokinetics of meloxicam in red-eared slider turtles (*Trachemys scripta elegans*) after single intravenous and intramuscular injections. *American Journal of Veterinary Research*, 77(5), 439-444. <https://doi.org/10.2460/ajvr.77.5.439>

Vree, T. B., Vree, M. L., Van Den Biggelaar-Martea, M., Verwey-Van Wissen, C. P. W. C. M., & Nouws, J. F. M. (1994). Glucuronidation of naproxen by the turtle *Pseudemys scripta elegans*. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, *17*(1), 74-76. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.1994.tb00525.x>

Walker, K., Fox, A. J., & Urban, L. A. (1999). Animal models for pain research. *Molecular Medicine Today*, *5*(7), 319-321. [https://doi.org/10.1016/s1357-4310\(99\)01493-8](https://doi.org/10.1016/s1357-4310(99)01493-8)

Wambugu, S. N., Towett, P. K., Kiama, S. G., Abelson, K. S. P., & Kanui, T. I. (2010). Effects of opioids in the formalin test in the Speke's hinged tortoise (*Kinixys spekii*). *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, *33*(4), 347-351. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.2009.01148.x>

Wellehan, J. F. X., Gunkel, C. I., Kledzik, D., Robertson, S. A., & Heard, D. J. (2006). Use of a nerve locator to facilitate administration of mandibular nerve blocks in crocodylians. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, *37*(3), 405-408. <https://doi.org/10.1638/05-047.1>

Wheatley, B. M., Nappo, K. E., Christensen, D. L., Holman, A. M., Brooks, D. I., & Potter, B. K. (2019). Effect of NSAIDs on bone healing rates: a meta-analysis. *Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeon*, *27*(7), e330-e336. <https://doi.org/10.5435/JAAOS-D-17-00727>

Whiteside, D. P. (2014). Analgesia. In G. West, D. J. Heard, & N. Caulkett (Eds.), *Zoo animal and wildlife immobilization and anesthesia* (2nd ed., pp. 83-108). John Wiley & Sons Inc.

Whiting, P., Al, M., Westwood, M., Ramos, I. C., Ryder, S., Armstrong, N., Misso, K., Ross, J., Severens, J., & Kleijnen, J. (2015). Viscoelastic point-of-care testing to assist with the diagnosis, management and monitoring of haemostasis: a systematic review and cost-effectiveness analysis. *Health Technology Assessment*, *19*(58), 1-228. <https://doi.org/10.3310/hta19580>

Wilkinson, S. L., & Divers, S. J. (2020). Clinical management of reptile renal disease. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, *23*(1), 151-168. <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2019.09.002>

Williams, C. J., James, L. E., Bertelsen, M. F., & Wang, T. (2016). Tachycardia in response to remote capsaicin injection as a model for nociception in the ball python (*Python regius*). *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, *43*(4), 429-434. <https://doi.org/10.1111/vaa.12321>

Wimsatt, J., Canon, N., Pearce, R. D., Vap, L. M., & Getzy, D. M. (2009). Assessment of novel avian renal disease markers for the detection of experimental nephrotoxicosis in

pigeons (*Columba livia*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 40(3), 487-494. <https://doi.org/10.1638/2008-0169.1>

Xia, Y., & Haddad, G. G. (2001). Major differences in expression of delta- and mu-opioid receptors between turtle and rat brain. *Journal of Comparative Neurology*, 436, 202-210. <https://doi.org/10.1002/cne.1061>

Yaksh, T. L., Dirig, D. M., & Malmberg, A. B. (1998). Mechanism of action of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Cancer Investigation*, 16(7), 509-527. <https://doi.org/10.3109/07357909809011705>

Zhang, J., Haddad, G. G., & Xia, Y. (2000). Delta-, but not mu- and kappa-, opioid receptor activation protects neocortical neurons from glutamate-induced excitotoxic injury. *Brain Research*, 885(2), 143-153. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(00\)02906-1](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(00)02906-1)

Zollinger, T. J., Hoover, J. P., Payton, M. E., & Schiller, C. A. (2011). Clinicopathologic, gross necropsy, and histologic findings after intramuscular injection of carprofen in a pigeon (*Columba livia*) model. *Journal of Avian Medicine and Surgery*, 25(3), 173-184. <https://doi.org/10.1647/2010-023.1>