

Le modèle animal en expérimentation

Jean-Claude DESFONTIS

UPSP 5304 Physiopathologie Animale et Pharmacologie Fonctionnelle

Département de Biologie et Pharmacologie

Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes

Atlanpôle, La chantrerie, BP 40706

44307 Nantes Cedex 3

1. Rappels de réglementation européenne sur l'expérimentation animale

La première réglementation concernant l'expérimentation animale en Europe a été établie en 1876. Elle est née d'une très forte pression des activistes de protection animale. Le Royaume Uni fût ainsi le seul pays possédant une réglementation protégeant les animaux utilisés à des fins scientifiques. Dans les années 1980, l'Europe a adopté deux textes importants pour contrôler l'utilisation des animaux en expérimentation animale.

En 1985, le conseil de l'Europe (26 pays) adopte la convention sur la protection des animaux vertébrés utilisés à des fins expérimentales ou à d'autres fins scientifiques (convention ETS 123), après de nombreuses années de discussion. Cette convention, qui n'a pas force de loi, devient effective quand elle est ratifiée par un état membre. Elle a été complétée par des résolutions sur les aspects suivants : 1992 : formation des personnes travaillant avec les animaux, 1997 : acquisition et transport des animaux de laboratoire, 1997 : hébergement et soins des animaux de laboratoire.

En 1986, la directive sur la protection des animaux vertébrés utilisés à des fins expérimentales ou à d'autres fins scientifiques est adoptée par le conseil des Ministres de la CEE (directive 86/609/CEE). Ce document est basé sur celui de la convention ETS 123 mais il est plus concis et plus contraignant. Tous les états membres de la CEE doivent transcrire dans leur réglementation nationale cette directive.

Toute législation sur la protection des animaux de laboratoire est basée sur le principe que, sous certaines conditions, il est moralement acceptable d'utiliser les animaux pour des fins scientifiques ou expérimentales. La plupart des lois contiennent des clauses stipulant que le nombre d'animaux utilisés doit être maintenu au minimum. De plus, la plupart des réglementations possèdent les objectifs suivants :

- définir les objectifs légitimes pour lesquels les animaux de laboratoire peuvent être utilisés,
- s'assurer de la compétence de tout le personnel de laboratoire et de recherche,
- limiter l'utilisation de l'animal quand des alternatives sont disponibles,
- prévenir la détresse et la souffrance non nécessaire des animaux,
- fournir un système d'inspection des animaleries et des protocoles,
- assurer une comptabilité publique du nombre d'animaux utilisés.

La directive 86/609/CEE s'applique aux animaux vertébrés utilisés dans des expérimentations susceptibles de produire de la douleur, de la souffrance, de la détresse ou des dommages durables. Au Royaume-Uni et aux Pays-Bas, la transposition de la directive en droit national étend son application aux animaux invertébrés. L'euthanasie et le marquage des animaux avec la méthode la moins douloureuse ne sont pas considérés comme des expériences. Cependant, en France, en Suède et aux Pays-Bas, la définition d'un protocole est plus large et inclut l'euthanasie. Originellement limitée aux expériences entreprises pour le développement et la sécurité des médicaments et autres produits, la directive a été étendue en 1987 à tous les animaux d'expérimentation, incluant ceux utilisés en recherche fondamentale et dans les cursus de formation. Depuis 2001, un second amendement de la directive invite les autorités des états membres à inclure des mesures supplémentaires concernant : l'utilisation des animaux pour l'enseignement, les études médico-légales, l'euthanasie d'animaux donateurs de tissus ou d'organes, l'élevage commercial d'animaux d'expérimentation (hébergement et soins). La directive stipule que les animaux doivent être traités humainement avant, pendant et après chaque protocole expérimental. De plus, une personne compétente doit superviser l'état de santé des animaux, et les expériences doivent être réalisées uniquement par une personne considérée comme compétente ou sous sa responsabilité directe. De même, les personnes réalisant les expériences, prenant part aux protocoles ou participant aux soins des animaux d'expérimentation doivent avoir suivi une formation appropriée.

En matière de méthodes alternatives à l'utilisation des animaux de laboratoire, la directive indique qu'une expérimentation est illicite si le résultat peut être raisonnablement et pratiquement obtenu sans utiliser d'animaux. En cas d'absence d'alternative à l'utilisation de l'animal, ce sont les animaux qui possèdent le degré le plus faible de sensibilité neurophysiologique (ou la plus faible capacité de souffrance) qui doivent être utilisés à condition de respecter la compatibilité avec les objectifs scientifiques de l'étude. La directive impose de minimiser la détresse et la souffrance dans toutes les expériences et encourage le développement et la validation des méthodes alternatives. D'autre part, les animaux sauvages

ne doivent pas être utilisés sauf si les autres animaux ne peuvent satisfaire aux objectifs de l'étude.

Toutes les expériences doivent être réalisées sous anesthésie générale ou locale, sauf si l'anesthésie est plus traumatisante que l'expérience elle-même ou si elle est incompatible avec les objectifs de l'expérience. Si l'anesthésie n'est pas possible, alors la douleur, la détresse ou la souffrance doivent être limitées et les analgésiques ou toute autre méthode appropriée doivent être utilisés. En fin d'expérience un vétérinaire ou une autre personne compétente doit décider si l'animal doit rester en vie ou être euthanasié humainement. Aucun animal ne doit rester en vie ou être susceptible de présenter une douleur ou une détresse permanente. De plus, aucun animal ne doit être utilisé plus d'une fois dans des protocoles générant une forte douleur ou une détresse. La directive spécifie l'obligation de déclarer, a priori, toute utilisation d'animaux dans des expériences ainsi que les utilisateurs, aux autorités compétentes. Si l'animal doit présenter une forte douleur, le protocole doit être spécifiquement déclaré et justifié aux autorités compétentes. L'autorisation sera obtenue seulement dans le cas où un apport essentiel pour l'homme ou l'animal sera attendu.

Par ailleurs, les autorités nationales doivent collecter le nombre total d'animaux utilisés et établir des statistiques détaillant le nombre d'animaux utilisés en fonction des domaines d'application.

Dans chaque état membre, seuls les établissements agréés par les autorités compétentes sont autorisés à élever et fournir les animaux pour la recherche. Les chiens, les chats et les primates non humains doivent être livrés avec une identification individuelle.

Les établissements utilisateurs d'animaux d'expérimentation doivent être agréés par les autorités. Ils doivent comporter un personnel compétent suffisant. Seuls les animaux élevés dans l'animalerie ou fournis par des éleveurs agréés peuvent être utilisés.

Dans la plupart des cas, l'inspection, vérifiant l'adéquation avec la réglementation, est assurée par des vétérinaires ou des biologistes expérimentés sous tutelle de l'autorité compétente.

En matière d'évaluation éthique, la directive n'impose pas l'établissement de comités d'éthique. Cependant et au vue de l'importance prise par la notion de bien-être, ou plutôt de bien-traitance (*welfare*), des animaux d'expérimentation dans le grand public, la revue éthique des protocoles expérimentaux sur les animaux semble devenir une étape importante dans l'acceptation de l'utilisation des animaux en expérimentation. En Belgique, en Suède et aux Pays-Bas, l'évaluation éthique est réglementée. En France, au Royaume-Uni et en Finlande des comités sont chargés de réaliser une évaluation éthique des protocoles avant toute

expérimentation. Au Danemark, l'inspecteur a le pouvoir de bloquer un protocole sur des arguments éthiques.

2. Animal modèle pour l'homme ?

Tous les êtres vivants ont fait l'objet d'une classification par l'homme en tenant compte de leurs liens phylogéniques et de leurs similitudes biologiques. Ainsi, les animaux sont classés dans le Règne animal, en différents Embranchements, Classes, Ordres, Familles, Genres et Espèces. Tous ces animaux présentent des points communs et de très nombreuses particularités tant du point de vue morphologique que génétique, biochimique et physiologique.

Compte tenu de leurs similitudes, les animaux sont utilisés comme modèles d'étude de l'homme (l'animal le plus évolué) pour des raisons éthiques évidentes. La plupart de nos connaissances de base en biochimie, physiologie, endocrinologie et pharmacologie sont issues d'études initiales dans des modèles animaux. Ces études n'auraient pas pu être menées chez l'homme pour des considérations éthiques et religieuses. De plus, les considérations scientifiques font des modèles animaux les meilleurs modèles d'étude d'un phénomène biologique. Toutefois, le choix du modèle doit être raisonné et peut être fondamental dans la validité de l'extrapolation qui sera faite à l'homme. En fonction des objectifs recherchés, il faudra veiller au choix de l'espèce animale utilisée et de sa place dans la classification des espèces ainsi qu'au choix des méthodes expérimentales employées.

Un bon modèle animal doit décrire un phénomène biologique qu'il possède en commun avec l'(les) espèce(s) cible(s). La validité d'un modèle animal en ce qui concerne l'extrapolation possible des résultats à l'homme dépend du choix raisonné de ce modèle. Une bonne connaissance de l'anatomie, de la physiologie, de la biochimie, de la génétique constitue un avantage évident dans la sélection d'un nouveau modèle. Toutefois, la recherche de la meilleure validité dans l'extrapolation des résultats se heurte à l'hétérogénéité naturelle (génétique, culturelle, environnementale) de la population humaine. Cela n'a, le plus souvent, que des conséquences mineures pour des modèles de pathologie, mais cette considération peut devenir très significative pour des modèles utilisés en pharmacologie ou en toxicologie.

L'ensemble de ces modèles animaux sont hiérarchisés selon l'objectif des études :

- description d'un phénomène biologique normal ou anormal,

- mise en évidence des mécanismes et des déterminismes mis en jeu dans un phénomène biologique
- évaluation prédictive de l'efficacité et/ou de la sécurité de futurs médicaments.

2.1. Choix du modèle vertébré vs non vertébré

Les animaux vertébrés sont a priori de meilleurs modèles d'étude pour l'homme. Toutefois, de nombreuses données fondamentales ont été obtenues à partir de modèles non vertébrés. Il suffit de citer la mouche *Drosophila melanogaster* qui a permis de jeter les premières bases de la génétique végétale et animale à partir d'un modèle simple ou le nématode *Caenorhabditis elegans* qui contribue à la découverte de données génétiques récentes. Le calmar, par son axone géant, a facilité la compréhension des mécanismes neurophysiologiques par les techniques de l'époque.

Bien évidemment, les données obtenues ne sont pas transposables directement à l'homme, mais elles permettent de proposer des hypothèses générales de mécanisme et de déterminisme. Dans un souci de respect de l'éthique, ces modèles doivent être exploités au mieux afin de limiter, au maximum, l'emploi d'animaux évolués.

2.2. Choix du modèle vertébré supérieur vs non supérieur

Pour des raisons éthiques, le choix de l'espèce favorisera toujours l'espèce la moins avancée dans le processus d'évolution des espèces, sans minimiser l'objectif principal de l'étude. En conséquence, pour des études de phénomènes biologiques fondamentaux, des modèles peu évolués seront largement suffisants, alors que dans l'investigation de certaines pathologies, il sera nécessaire de trouver une espèce animale phylogéniquement très voisine, pour pouvoir reproduire la maladie. Les primates non humains constituent de bons modèles d'études des maladies infectieuses humaines car ils sont réceptifs à la plupart des agents infectieux rencontrés chez l'homme.

2.3. Choix du modèle *in vivo* vs *in vitro*

Les approches expérimentales *in vivo* et *in vitro* sont complémentaires dans les informations qu'elles permettent de récolter. Le choix de l'une ou l'autre sera fonction du type d'information recherché. Pour les informations du type « mécanisme d'action » comme l'effet agoniste ou antagoniste d'un médicament sur un récepteur membranaire, les études *in vitro* permettront de bien caractériser et analyser les interactions moléculaires. Lorsque l'information souhaitée est par nature synthétique comme la pharmacologie d'un médicament

dans l'organisme, les études *in vivo* sont obligatoires. En effet, l'efficacité d'un médicament dépend, en partie, de son devenir dans l'organisme (absorption, distribution, métabolisme, élimination). Les approches *in vitro* nécessitent la plupart du temps l'euthanasie de l'animal. Il faudra veiller à l'emploi d'une méthode d'euthanasie « humaine ». Pour des raisons éthiques, il faut explorer, chaque fois que possible, l'opportunité de réaliser des prélèvements sur des animaux destinés à la consommation humaine et euthanasiés à l'abattoir. Les avantages et les inconvénients de ces deux approches expérimentales sont :

Approche *in vitro* :

Avantages :

- Analyse fine des interactions au niveau cellulaire et moléculaire (affranchissement des boucles de régulation physiologiques)
- Facilité dans la modélisation mathématique des résultats expérimentaux (faible nombre de paramètres biologiques à prendre en compte)
- Réduction possible du nombre d'animaux utilisés (multiplication du nombre de fragments d'organe prélevés sur un même animal)
- Très bonne reproductibilité des résultats
- Possibilité d'évaluer plusieurs protocoles expérimentaux sur un même organe ou fragment d'organe (série de doses, différentes conditions expérimentales consécutivement)
- Peut éviter l'utilisation d'animaux de laboratoire quand les prélèvements sont réalisés à l'abattoir

Inconvénients :

- Toujours invasif
- Nécessité d'une grande maîtrise technique pour assurer la survie des organes et conserver une réactivité reproductible dans le temps
- Aboutit automatiquement à la mort de l'animal

Approche *in vivo* :

Avantages :

- Prise en compte de l'animal dans son intégralité en respectant les boucles de régulation physiologiques
- N'aboutit pas automatiquement à la mort de l'animal (méthodes non invasives)

Inconvénients :

- Nécessité de maîtriser les effets délétères chez les animaux utilisés dans les modèles de pathologie expérimentale
- Plus grande variabilité dans les résultats expérimentaux
- Réduction difficile du nombre d'animaux utilisés (un seul résultat expérimental est obtenu par animal)

2.4. Choix de l'état expérimental anesthésié vs vigile

L'approche expérimentale *in vivo* peut être mise en œuvre soit sur animaux vigiles soit sur animaux anesthésiés. Le choix sera fonction de l'objectif de l'étude et, plus particulièrement du type et de la quantité de données à recueillir et de l'interférence possible des résultats avec la technique expérimentale.

L'anesthésie consiste à tranquilliser l'animal pour l'immobiliser et surtout à abolir sa sensibilité somesthésique dont nociceptive. Les anesthésiques sont des molécules dont l'action passe par l'inhibition de l'activité de certains neurones centraux. La plupart des anesthésiques présentent des effets secondaires modifiant les fonctions végétatives de l'animal comme la circulation sanguine, la respiration.

Le choix d'anesthésier ou non l'animal doit être évalué selon les avantages et les inconvénients rencontrés :

Animal anesthésié :

Avantages :

- Absence de motricité de l'animal
- Absence de réaction consciente de l'animal
- Réactions neurovégétatives limitées
- Enregistrement possible de nombreux paramètres de manière invasive
- Assez bonne reproductibilité

Inconvénients :

- Nécessité d'un choix raisonné de l'anesthésique (effets propres des anesthésiques)
- Interférence possible entre l'anesthésie ou l'anesthésique et les paramètres expérimentaux mesurés
- Réactions neurovégétatives limitées
- Mort de l'animal en fin d'expérience le plus souvent
- Suivi dans le temps le plus souvent impossible

Animal vigile :

Avantages :

- Absence d'interférence entre la procédure expérimentale et les résultats expérimentaux
- Suivi dans le temps des paramètres
- Enregistrement possible à distance et sans intervention grâce aux implants téléométriques

Inconvénients :

- Enregistrement très limité de paramètres de manière invasive
- Motricité volontaire de l'animal
- Plus grande variabilité dans les résultats expérimentaux
- Nécessité de maîtriser les effets délétères chez les animaux utilisés dans les modèles de pathologie expérimentale

2.5. Pertinence d'une expérimentation invasive vs non invasive

Les approches expérimentales invasives ont permis d'accéder à un grand nombre de mesures de paramètres biologiques sur un même animal. A partir des implantations expérimentales réalisées chez ces animaux, ils sont généralement euthanasiés à la fin de l'expérimentation.

Actuellement, les approches expérimentales non invasives prennent de plus en plus d'essor en

reuK5162(.4a)-1.18213(t)-2.17.13762(0.205162(s)-1.16014()-0.102581(g)-2.17.13764)-0.102581(f

Grieder F.B. and Strandberg J.D., 2003. The contribution of laboratory animals to medical progress – Past, present and future. In Hau J. and Van Hoosier L. Jr, 2003. *Handbook of laboratory animal science*, second edition, Volume I essential principles and practices. Boca Raton, CRC Press : 1-11.

Hau J., 2003. Animal models. In Hau J. and Van Hoosier L. Jr, 2003. *Handbook of laboratory animal science*, second edition, Volume II animal models. Boca Raton, CRC Press : 1-9.

Quimby F.W., 2002. Animal models in biomedical research. In Fox J.G., Anderson L.C., Loew F.M. and Quimby F.W., 2002. *Laboratory Animal Medicine*, second edition. San Diego, Academic press : 1185-1225.