

Expérimentation sur les animaux

1. Principes généraux :

Les études imposent souvent aux animaux des contraintes. Cela peut être de l'inconfort, lié par exemple à une restriction même momentanée de la liberté de mouvement, du stress lié à la manipulation ou de la douleur dans le cas de certains modèles pathologiques comme par exemple l'arthrite.

Ces contraintes peuvent exister même lorsque les meilleures techniques et méthodes connues sont utilisées. L'évaluation des contraintes, en durée et en intensité, permet d'engager une réflexion visant à les diminuer si elles apparaissent élevées.

Cette diminution peut être apportée de différentes façons : nouvelle technique, anesthésie, analgésie, hébergement modifié. Le protocole de l'étude est modifié en fonction des améliorations retenues.

L'évaluation des techniques et des méthodes se fait par rapport aux référentiels et aux connaissances actualisés ou par rapport à des exigences normatives imposées par la réglementation (pharmacopées). Dans tous les cas, tout aménagement susceptible d'améliorer le bien-être des animaux doit être retenu.

Un établissement de recherche ou une institution peuvent souhaiter établir des référentiels qui leurs sont propres. Ils sont évalués par le comité.

2. Types d'expérimentations :

L'expérimente aigue se déroule dans un court laps de temps, on produit une lésion intense et on évalue les réactions locale et régionales Ex: la réaction inflammatoire;

L'expérimenté chronique se déroule dans une période long de temps (semaine, mois, ans), permet l'évaluation des réactions générale de l'organisme à l'action des facteurs pathogènes.
Ex: le cancer expérimentale.

3. Le conditionnement des animaux :

La situation impliquant l'immobilisation des animaux afin d'éviter les accidents (ex: morsures, égratignures, etc.) en cas de recours à des mesures d'aide pour éviter l'infection ou la transmission de zoonoses.

Dans ce contexte, il accordera une attention particulière pour surveiller la santé des animaux de laboratoire, en particulier en ce qui concerne:

- les maladies transmissibles à l'homme,
- les spécificités du travail

Si les animaux utilisées sont malades seront pris des mesures supplémentaires de protection du travail, par l'utilisation de gants en caoutchouc etc.

4. Procédures expérimentales :

4.1. Administration de substances et prélèvements

La plupart des études consistent en l'exposition des animaux à des substances ou des environnements particuliers dans des conditions qualitatives et quantitatives précises relatives à l'intensité (doses), au lieu d'administration et au temps (fréquence, durée). De même, le prélèvement de sang fait partie de très nombreux protocoles d'études.

Le document de saisine doit préciser les modalités (voie, volume, fréquence) d'administrations et de prélèvements pour l'étude présentée.

Que ce soit pour l'administration de substances ou pour les prélèvements, il faut appliquer avec professionnalisme une technique adaptée qui permette d'obtenir le résultat escompté en perturbant les animaux le moins possible.

La réglementation ne donne pas de référence en matière d'administration de substances et de prélèvements. Les conditions qu'il convient d'appliquer sont détaillées dans différents référentiels.

La procédure de prélèvement sanguin au sinus rétro-orbitaire chez les rongeurs est très fréquemment utilisée car elle permet le prélèvement rapide d'une quantité de sang suffisante pour la plupart des examens. Cette technique étant appliquée à un grand nombre d'animaux, il faut insister sur le fait que cette procédure peut entraîner des lésions et de la douleur. C'est pourquoi elle devrait être réalisée sous anesthésie générale, qui rend le prélèvement plus aisé, et en limitant le nombre de prélèvements.

Les propriétés physico-chimiques des substances administrées et de leur véhicule doivent répondre à des critères de biocompatibilité variables selon la voie d'administration : tolérance locale, température, stérilité, tonicité, pH, afin de garantir l'absence d'effets secondaires tels qu'irritation ou hémolyse.

L'administration de produits médicamenteux et le prélèvement d'échantillons biologiques:

- la voie sous-cutanée,
- intramusculaire,
- épidurale,
- intrapéritonéale,
- intracardiaque,
- intraveineuse.

4.2. Analgésie et anesthésie

La réalisation d'une étude peut entraîner l'apparition de douleur ou de souffrance chez les animaux. L'article R214-91 du code rural exige que les études qui peuvent entraîner des souffrances soient réalisées sous anesthésie locale ou générale ou sous analgésie, sauf si leur pratique est plus traumatisante que l'étude elle-même ou incompatible avec les buts de l'étude.

L'expérimentateur doit donc donner dans le document de saisine toute l'information utile sur la possibilité d'apparition de douleur ou de souffrance dans l'étude et sur les mesures prises (analgésie ou anesthésie) pour les supprimer ou les diminuer.

Il doit décrire les méthodes d'analgésie ou d'anesthésie retenues et les justifier. Un référentiel des niveaux de douleur et des classes d'agents antalgiques utilisables a été développé par le comité régional d'éthique en matière d'expérimentation animale.

Les connaissances des personnes qui pratiquent doivent porter au minimum sur les effets des produits utilisés pour l'analgésie et l'anesthésie dans l'espèce animale considérée, sur les réactions des animaux (détection des stades de l'anesthésie, phases de réveil, signes de douleur) et sur la conduite à tenir en cas de réveil précoce ou de surdosage.

Ceci dit, l'efficacité d'une analgésie ou d'une anesthésie ne peut s'appuyer uniquement sur une prescription, elle demande à être vérifiée sur place. Une expérience pratique doit donc compléter la formation théorique. Le document de saisine doit apporter des informations sur ces différents points.

Dans l'esprit d'améliorer une procédure expérimentale (raffinement), les animaux **doivent recevoir des analgésiques** après des interventions douloureuses (douleurs postopératoires aiguës) ou lors d'états douloureux importants, chroniques (p. ex. croissance tumorale), pour autant que le but de l'expérience le permette.

Une anesthésie conforme à la protection des animaux et appropriée à une intervention chirurgicale se définit comme un état réversible et contrôlable, dans lequel la perception de stimuli douloureux ou autres est complètement supprimée (**absence de conscience et de sensibilité**, le plus souvent combinées à une **relaxation musculaire**).

Il existe trois types d'anesthésie :

L'anesthésie locale

L'anesthésie régionale

L'anesthésie générale

L'anesthésie locale s'obtient soit par:

- une administration topique,
- une injection sous-cutanée ou intradermique d'anesthésique local.

L'anesthésie locale est utilisée pour des chirurgies mineures de courte durée. Ex :- la suture d'une plaie.

L'anesthésie générale procure une perte complète de la sensibilité et de la conscience.

- par l'inhalation d'un produit gazeux;
- par l'utilisation de drogues injectables.

Un bon anesthésique doit entraîner une perte de conscience, une bonne analgésie, une bonne relaxation musculaire et une faible dépression cardio-respiratoire.

Il peut être nécessaire d'utiliser une combinaison de produits anesthésiques et analgésiques afin de procurer une anesthésie sécuritaire et complète chez certains animaux.

L'anesthésie aux agents volatils (ex: l'isoflurane) est la méthode de choix pour toutes les formes d'anesthésie de rongeur. Le gaz anesthésique est administré à l'aide d'un masque placé sur son museau.

Lorsqu'il est possible:

- un tube endo-trachéal est utilisé;
- pour augmenter l'efficacité de l'anesthésie et diminuer les pertes.

L'anesthésie aux injectables peut être utilisée lors de chirurgies mineures, de courte durée ou lorsqu'il est impossible d'utiliser l'anesthésie par inhalation.

L'induction (l'étape dans laquelle l'animal tombe inconscient) peut être faite par:

- l'administration d'anesthésiques injectables;
- l'utilisation d'une chambre à induction.

Dès que l'animal est inconscient, il est important de lui appliquer un onguent ophtalmique dans les yeux afin d'éviter l'assèchement de ceux-ci.

- si des procédures expérimentales douloureuses sont prévues sur l'animal durant son anesthésie (ex : chirurgie, injection, etc.), une dose de médicament analgésique (ex: buprénorphine) doit être administrée à l'animal afin de:
 - prévenir la douleur;
 - diminuer le stress lors du réveil

La réalisation sans douleur des interventions chirurgicales et de certains examens invasifs, s'associe à la nécessité d'une surveillance continue et souvent d'un contrôle artificiel (mécanique et/ou pharmacologique) des fonctions vitales :

- respiration (fréquence respiratoire, oxymétrie),
- hémodynamique (rythme cardiaque, pression artérielle),
- tonus musculaire.

4.3. Réveil et soins postopératoires :

Le suivi de l'état de l'animal doit se poursuivre durant la phase de réveil;

- on doit s'assurer que les voies respiratoires ne sont pas obstruées par la langue.

Lors du réveil, l'animal doit être placé dans une cage propre près d'une source de chaleur afin de diminuer les risques d'infection et d'hypothermie.

5. Chirurgie

La chirurgie est une pratique qui porte atteinte à l'intégrité physique par l'incision. Elle se déroule sous anesthésie locale, régionale ou générale. Elle requiert des compétences particulières qui s'acquièrent par des connaissances de base et un apprentissage des gestes auprès de spécialistes.

L'expérimentateur doit préciser dans le document de saisine les raisons du recours à la chirurgie, le détail des méthodes (préparation des animaux, anesthésie, analgésie, asepsie, intervention, réveil et soins post-opératoires), les personnes ou les équipes impliquées (leurs formations et leurs autorisations) et les équipements ou locaux concernés.

Pour l'évaluation, le comité d'éthique se base sur les informations données par l'expérimentateur, y compris les références à des procédures ou à des publications, sur sa

connaissance des intervenants et des équipements, sur sa connaissance de la chirurgie (anesthésie, analgésie, asepsie, technique chirurgicale, monitoring) et si nécessaire sur l'avis d'un expert.

Selon l'importance de l'intervention chirurgicale (mineure ou majeure), les conditions d'examen par le comité doivent être adaptées.

Les interventions chirurgicales mineures sont utilisées par exemple pour la pose de cathéters ou de capteurs dans des tissus sous-cutanés ou musculaires ou pour la réimplantation d'embryons dans des femelles pseudo-gestantes. Elles permettent la réalisation de l'étude sans en être l'objet le plus souvent.

Ces interventions simples quand elles sont réalisées de façon répétitive peuvent faire l'objet de procédures internes. Les procédures une fois approuvées par le comité peuvent être citées en référence dans les documents de saisine.

Les locaux et les intervenants doivent être précisés pour chaque étude, à moins qu'ils ne soient mentionnés dans les procédures. S'il s'avère impossible de définir précisément les personnes et les locaux a priori, le comité peut se satisfaire d'une référence à une équipe et à un groupe de locaux.

Les interventions chirurgicales majeures sont entreprises par exemple pour la pose d'appareillage intra-abdominal ou intra-thoracique ou pour la recherche dans le domaine chirurgical. Leur bonne réalisation exige des moyens importants et des compétences spécialisées. Leur caractère invasif peut entraîner des douleurs post-opératoires importantes si elles ne sont pas réduites par l'utilisation d'analgésiques.

Compte tenu de ces particularités, les interventions chirurgicales majeures demandent une attention particulière du comité.

La compétence et l'expérience des intervenants et la qualité des équipements doivent être examinées en détail.

5.1. Les laparotomies

On appelle laparotomie ou coeliotomie, les interventions chirurgicales qui consistent à ouvrir la cavité abdominale. Elles constituent le premier et le dernier temps opératoire de toutes les opérations de chirurgie abdominale.

Le seul objectif de la laparotomie exploratrice est d'effectuer, sur l'animal vivant, l'examen des viscères abdominaux. Cette indication est tout à fait exceptionnelle dans les grandes espèces.

Les laparotomies ont pour but de permettre au chirurgien d'intervenir sur les organes abdominaux; Elles constituent le moyen opératoire de toutes les interventions concernant le foie, la rate, le rein et les voies urinaires, ainsi que le tube digestif.

5.2. Le cathétérisme artériel et veineux

L'accès au système circulatoire dans les études en laboratoire est nécessaire. Les études pharmacologiques chez des rats en utilisant des cathéters implantés chroniquement permettent à un chercheur de manière efficace et humaine administrer des substances, effectuer des

prélèvements sanguins répétés et aide à conscientes des mesures directes de la pression artérielle et fréquence cardiaque.

Une fois le cathéter est implanté de longue durée d'échantillonnage est possible. La perméabilité de vie et le cathéter dépend de multiples facteurs, y compris la solution de verrouillage utilisé, le schéma de rinçage et matériau du cathéter.

- Canulation : introduction d'une canule (cathéter) dans un vaisseau ou un canal pour injecter ou prélever une substance donnée.

- Trachéotomie: C'est la canulation de la trachée artère pour faciliter la respiration de l'animal.

- Canulation de la vessie: mesurer la diurèse en recueillant directement les urines

Type de canulation	Sens	But
Trachée-artère	Vers les poumons	Faciliter la respiration
Jugulaire	Vers le cœur	Injection de substances
Carotide	Vers cœur	Récupération de sang
Canal cholédoque	Vers le foie	Récupération de la bile

5.3. Euthanasie

L'euthanasie est l'acte de mettre fin à la vie d'un animal par une méthode qui entraîne le minimum de stress et de douleur.

L'euthanasie est régulièrement utilisée à l'issue des études, soit parce qu'elle est nécessaire pour la réalisation d'examens ou de prélèvements (cas, de loin, le plus fréquent), soit parce qu'aucune autre issue n'est envisageable pour les animaux, notamment lorsque leur survie se ferait au prix de souffrances prolongées.

L'expérimentateur doit préciser dans le document de saisine le moment de l'euthanasie des animaux, la méthode d'euthanasie utilisée, les personnes chargées de la réalisation, le lieu de l'euthanasie et les prélèvements ou examens éventuellement réalisés avant la mort (par exemple pendant la phase d'anesthésie qui peut précéder l'euthanasie).

Le choix d'une méthode d'euthanasie dépend principalement de l'espèce animale, des prélèvements ou examens éventuellement prévus, des compétences des personnes qui la réalisent et des moyens disponibles, au regard en particulier des effectifs d'animaux concernés.

Dans certains cas et pour garantir la qualité des opérations, le comité peut approuver une liste restreinte de méthodes d'euthanasie utilisables qui tient compte des locaux et des équipements disponibles, des études couramment réalisées et de la formation des personnes.

Les personnes chargées de l'euthanasie doivent être formées à la méthode retenue. De même, en fonction de la méthode retenue, les locaux où l'euthanasie est réalisée doivent être aménagés pour offrir de bonnes conditions de travail. Les manipulations qui précèdent l'euthanasie sont réalisées de façon à entraîner le moins de stress possible chez les animaux.

6. L'enregistrement des résultats

L'examen clinique:

- fréquence cardiaque;
- fréquence respiratoire;
- température centrale/rectale;
- les reflexes.

L'examen de laboratoire:

- détermination hématologiques;
- détermination biochimiques;
- détermination enzymatiques;

Techniques d'imagerie médicale:

- radiographie/ radioscopie;
- résonance magnétique nucléaire;
- scintigraphie, échographie, etc.