

Implémentation 3R en recherche en Nutrition

Hélène Combrisson

Décembre 2014

hcombrisson@vet-alfort.fr

Principles of Humane Experimental Technique

W.M.S. Russell and R.L. Burch (1959)

Reduction

The concept of reduction covers any approach that will result in fewer animals being used to achieve the same objective, including maximising the information obtained per animal, reducing the number of animals used in the original procedure and/or limiting or avoiding the subsequent use of additional animals.



Principles of Humane Experimental Technique

W.M.S. Russell and R.L. Burch (1959)

Refinement

Today, the term refinement signifies the modification of any procedures or husbandry and care practices from the time the experimental animal is born until its death, so as to minimise the pain, suffering and distress experienced by the animal and enhance its well-being.

When an animal experiences pain, suffering or distress, there are often accompanying physiological changes which may increase the variability of scientific results. Refinement therefore is also likely to improve data quality and contribute to Reduction.



Photo credit: Novo Nordisk

Principles of Humane Experimental Technique

W.M.S. Russell and R.L. Burch (1959)

Replacement

Replacement can be defined as methods, strategies or approaches which do not involve the use of live animals.

Replacement may be achieved through a number of tools or their combinations including

- *in vitro* systems using tissues, whole cells or parts of cells
- systems based on biochemical approaches, i.e. using synthetic (macro)molecules as proxies of (reactive) toxicity targets. Such methods are referred to as "*in chimico*"
- computer-based models and approaches – often termed *in silico*
- use of 'omics' technologies (e.g. transcriptomics, proteomics and metabonomics)
- non-testing approaches such as 'read-across' technique



EUROPE :

- Conseil de l'Europe (47 pays) : **Convention européenne n° 123** ouverte à la signature le 18/03/1986 sur la *protection des animaux vertébrés utilisés à des fins expérimentales ou à d'autres fins scientifiques*

→ **Directive 2010 / 63 / UE**

votée le 8 septembre 2010

novembre 1986 concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives des Etats membres relatives à la *protection des animaux utilisés à des fins expérimentales ou à d'autres fins scientifiques.*

DIRECTIVE 2010/63/UE DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL
du 22 septembre 2010

relative à la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques

56 considérants dont :

considérant 11 : « Afin de garantir que les conditions d'élevage, de soins et d'utilisation des animaux dans des procédures dans l'Union sont conformes à celles des autres normes internationales et nationales applicables en dehors de l'Union, il y a lieu *d'envisager systématiquement les principes de remplacement, de réduction et de raffinement lors de la mise en œuvre de la présente directive* ».

Considérant 10 :

..... l'utilisation d'animaux vivants demeure nécessaire pour protéger la santé humaine et animale ainsi que l'environnement.

Cependant, la présente directive représente une étape importante vers la réalisation de l'objectif final que constitue le remplacement total des procédures appliquées à des animaux vivants à des fins scientifiques et éducatives, dès que ce sera possible sur un plan scientifique.

- ... promouvoir les progrès dans la mise au point *d'approches alternatives*.
- ... assurer un niveau élevé de *protection des animaux* qui doivent encore être utilisés dans des procédures.

La directive établit des mesures pour la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques ou éducatives.

À cet effet, elle fixe des règles relatives aux aspects suivants :

- a) le *remplacement* et la *réduction* de l'utilisation d'animaux dans les procédures et le *raffinement* des conditions d'élevage, d'hébergement, de soins et d'utilisation des animaux dans ces procédures;
- b) l'origine, l'élevage, le marquage, les soins, l'hébergement et la mise à mort des animaux;
- c) les opérations des éleveurs, fournisseurs et utilisateurs;
- d) l'évaluation et l'autorisation de projets impliquant l'utilisation d'animaux dans des procédures.

- ***Décret n ° 2013-118 relatif à la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques***
- Arrêté relatif à ***l'évaluation éthique et à l'autorisation des projets*** impliquant l'utilisation d'animaux dans des procédures expérimentales
- Arrêté relatif à la ***délivrance et à l'utilisation de médicaments*** employés par les établissements agréés en tant qu'utilisateurs d'animaux à des fins scientifiques
- Arrêté fixant les ***conditions de fourniture de certaines espèces animales*** utilisées à des fins scientifiques aux établissements utilisateurs agréés
- Arrêté relatif à ***l'acquisition et à la validation des compétences*** des personnels des établissements utilisateurs, éleveurs et fournisseurs d'animaux utilisés à des fins scientifiques
- Arrêté fixant les ***conditions d'agrément, d'aménagement et de fonctionnement des établissements*** utilisateurs, éleveurs ou fournisseurs d'animaux utilisés à des fins scientifiques et leurs contrôles

- ➔ Autorisation des personnes
- ➔ Agrément des établissements
- ➔ Pas de comité d'éthique

Les procédures ne peuvent être réalisées que :

- ➔ **par des personnes compétentes : l'autorisation des personnes disparaît**
- ➔ **dans le cadre d'un projet autorisé ...**
- ➔ **dans un établissement utilisateur agréé**

Tout établissement utilisateur, éleveur ou fournisseur d'animaux

→ doit avoir des personnels en nombre suffisant et possédant la *qualification* appropriée

Les personnels doivent notamment disposer d'un *niveau de compétence adéquat* pour exercer les fonctions ci-après :

- l'application de procédures aux animaux
- la conception de procédures et de projets
- les soins aux animaux
- la mise à mort des animaux.

MODULE DE BASE

1-Réglementation française applicable à l'expérimentation animale.

2-Principes éthiques concernant les relations entre l'homme et l'animal, valeur intrinsèque de la vie et arguments pour ou contre l'utilisation d'animaux à des fins scientifiques. Règle des 3 R ; rôle et fonctionnement des comités d'éthique

3-Éthique appliquée, mise en œuvre des 3 R

4-a-Méthodes alternatives- Principes généraux

4-b- Méthodes alternatives mise en œuvre dans la conception du projet.

5-Connaissances de base de la biologie comparative des espèces ; critère de choix du modèle expérimental.

6-a-Recours aux points limites adaptés, mise en œuvre.

6-b- Recours aux points limites adaptés : critères de choix des points limites

7-Méthodes d'euthanasie principes généraux

MODULES PAR ESPÈCES

8-a-Procédures expérimentales faiblement invasives : éléments théoriques par groupe d'espèces.

8-b-Procédures expérimentales faiblement invasives : éléments pratiques par groupe d'espèces.

9-Connaissances de base de la biologie pour un groupe d'espèces, dont la physiologie, l'anatomie, l'alimentation, la reproduction, le comportement, l'entretien, les techniques d'enrichissement en rapport avec les caractéristiques physiologiques, la génétique et les modifications génétiques.

10-Reconnaissance des signes de détresse, douleur et souffrance propres aux espèces.

11- Anesthésie et analgésie pour le groupe d'espèces considéré.

12- Méthodes d'euthanasie selon les espèces.

13-Gestion et suivi de la santé animale et de l'hygiène.

14-Équipements et matériel d'animalerie : description, utilisation, entretien.

15-Conception des procédures expérimentales et des projets.

16- Évaluation et validation de la formation

La qualification des personnels résulte :

- ⇒ de leur formation initiale,
- ⇒ de leur participation à une formation spécifique en expérimentation animale effectuée dans l'année suivant la prise de poste
- ⇒ de leur formation continue

Champ d'application :

- animaux vertébrés vivants, y compris
 - ✧ formes larvaires autonomes
 - ✧ formes fœtales de *mammifères* à partir du *dernier tiers* de leur développement
- céphalopodes vivants
- Animaux utilisés (ou destinés) dans des procédures expérimentales
- Ou élevés spécifiquement pour leurs organes ou tissus

Champ d'application :

Procédure expérimentale

- utilisation d'un animal ... susceptible de causer douleur, souffrance, angoisse ou dommages durables équivalents ou supérieurs à ceux causés par *l'introduction d'une aiguille...*
- inclut toute intervention destinée... à la création et à la conservation d'une lignée *d'animaux génétiquement modifiés*
- La mise à mort d'animaux, à la seule fin d'utiliser leurs organes ou tissus, n'est pas considérée comme une procédure



Projets, constitués de une ou plusieurs procédures expérimentales :

Ne sont licites que si :

1. Ils poursuivent des finalités définies

2. Ils respectent les principes des 3R :

- ↳ caractère de stricte nécessité
- ↳ impossibilité de remplacer par méthodes n'impliquant pas l'utilisation d'animaux vivants
- ↳ nombre d'animaux utilisés réduit à son minimum sans compromettre les objectifs du projet
- ↳ conditions d'élevage, d'hébergement, de soins et les méthodes utilisées les plus appropriées pour réduire le plus possible toute douleur...

Demande d'autorisation de projet :

- *Autorisation préalable du **ministère chargé de la recherche :***

Dossier :

- *résumé non technique*
 - *saisine pour comité d'éthique*
-
- ***Evaluation éthique favorable** du projet par un comité d'éthique enregistré auprès du ministère chargé de la recherche*

Autorisation des projets : résumé non technique

- anonyme, ne contenant ni le nom, ni l'adresse de l'utilisateur....
- respect de la propriété intellectuelle
- fournit des informations sur les *objectifs du projet*, y compris les avantages et les dommages attendus, ainsi que sur le *nombre et les types d'animaux utilisés*.
- démonstration de la conformité avec les 3Rs

Objectifs :

- Opportunité de *communication* pour démontrer le rapport entre études sur l'animal et bénéfiques pour l'homme
- Devoir de transparence – *confiance* du public

Autorisation des projets :

1. Pertinence et justification:

- a) de l'utilisation d'animaux, ...
- b) des procédures.



*2. Application de méthodes pour **remplacer, réduire et raffiner** l'utilisation des animaux dans des procédures.*

*3. Recours prévu à l'anesthésie, à l'analgésie et à d'autres méthodes pour **soulager la douleur**.*

*4. Dispositions prises en vue de **réduire, d'éviter et d'atténuer toute forme de souffrance** des animaux, de la naissance à la mort, le cas échéant.*

*5. Recours à des **points limites** adaptés.*





POINT LIMITE

**ARRET DE LA
PROCEDURE**

**TRAITEMENT
DE LA
DOULEUR**

EUTHANASIE



Observation et surveillance

Observation à distance (sans déranger l'animal)

- ⇒ Activité
- ⇒ Interactions sociales
- ⇒ Etat de vigilance
- ⇒ Toilettage
- ⇒ Comportement anormal : stéréotypies...
- ⇒ Aspect physique

*Listes de
vérification*

*Recherche
d'indicateurs
comportementaux
significatifs*

Réponses à des stimuli externes

- ⇒ Réaction à la contention/manipulation
- ⇒ Réaction au bruit
- ⇒ Réaction aux variations de l'intensité lumineuse
- ⇒ Interactions avec les congénères
- ⇒ Interactions avec l'environnement

Observation et surveillance (suite)

Mesures de paramètres physiologiques ou pathologiques :

⇒ physiologiques : poids, température....

⇒ Pathologiques : déshydratation, volume d'une tumeur...

Rôle ++++

personnels d'animalerie



Autorisation des projets) :

6. **Stratégie d'expérimentation** utilisé afin de réduire au minimum le nombre d'animaux, la douleur, la souffrance et l'angoisse infligées
7. **Réutilisation des animaux**
8. Proposition concernant la **classification des procédures** selon leur degré de gravité.
9. Dispositions prises pour **éviter tout double emploi** injustifié des procédures, le cas échéant.
10. Conditions **d'hébergement**, d'élevage et de soins des animaux.
11. Méthodes de **mise à mort**.
12. **Compétences** des personnes participant au projet



- ***Classes de gravité :***

↪ « *sans réveil* »

↪ « *légère* »

↪ « *modérée* »

↪ « *sévère* »

- **Classes de gravité :**

- ↳ **« légère »**

- Régime alimentaire ne répondant pas à tous les besoins nutritionnels de l'animal, susceptible d'entraîner une anomalie clinique légère ;
 - Confinement de courte durée (< 24 h) en cage métabolique
 - Etudes comportant, pendant une courte durée, la privation de congénères pour des espèces socialement développées et l'isolement en cage individuelle pour les rats ou les souris adultes ;

- ↳ **« modérée »**

- Utilisation de cages métaboliques entraînant une limitation modérée de la liberté de mouvement pendant une période prolongée (jusqu'à 5 jours)
 - Régime alimentaire modifié ne répondant pas à tous les besoins nutritionnels de l'animal, susceptible d'entraîner une anomalie clinique modérée
 - Jeûne forcé pendant 48 heures chez le rat adulte ;

- *Classes de gravité :*

- ↳ « *sévère* »

- *Utilisation de cages métaboliques entraînant une limitation importante de la liberté de mouvement pendant une période prolongée*
 - *Isolement complet d'espèces sociables (par exemple, les chiens et les primates non humains) pendant des périodes prolongées*





Autorisation des projets :

6. **Stratégie d'expérimentation** utilisé afin de réduire au minimum le nombre d'animaux, la douleur, la souffrance et l'angoisse infligées
7. **Réutilisation des animaux**
8. Proposition concernant la **classification des procédures** selon leur degré de gravité.
9. Dispositions prises pour **éviter tout double emploi** injustifié des procédures, le cas échéant.
10. Conditions **d'hébergement**, d'élevage et de soins des animaux.
11. Méthodes de **mise à mort**.
12. **Compétences** des personnes participant au projet

Agrément des établissements (1) :

Conditions d'hébergement et d'entretien des animaux :

a) logement, environnement, alimentation, apport en eau et soins *appropriés à la santé et au bien-être* des animaux

b) toute restriction de la capacité d'un animal de satisfaire ses *besoins physiologiques et éthologiques* soit limitée au strict minimum ;

c) conditions *d'environnement* et paramètres d'ambiance fassent l'objet d'un contrôle quotidien ;

d) des mesures soient prises *en cas de stress, d'angoisse ou tout dommage* *brefs à toute anomalie*

angoisse ou tout dommage

e) *animaux transportés* dans des

Les recommandations de l'annexe A de la Convention européenne deviennent des normes

Un arrêté conjoint... définit les normes de soins et d'hébergement



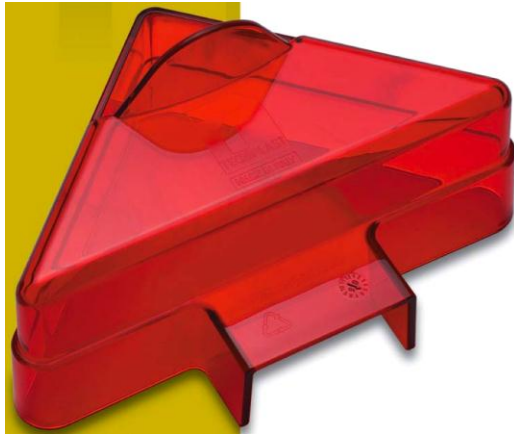
Figure 6. Mice need large, fibrous material for the construction of their nests.

Maureen Hargaden, Hoffmann-La Roche Inc.,
Nutley, NJ, USA. ©Roche Laboratories Inc., 2005



Figure 8. Appropriate nesting material—here shredded paper—is a necessity for rats to build relatively comfortable nests for themselves and for their offspring.

Lawlor, 1997



Maureen Hargaden, Hoffmann-La Roche Inc., Nutley, NJ, USA. ©Roche Laboratories Inc., 2005

Figures 18a & b. Mice exploring ceramic and plastic tubes.



Maureen Hargaden, Hoffmann-La Roche Inc., Nutley, NJ, USA. ©Roche Laboratories Inc., 2005

Variables, refinement and environmental enrichment for Rodents and Rabbits kept in research institutions. Viktor and Annie Reinhardt 2006, Animal Welfare Institute



*V. Baumans, P.L.P. Van Loo /
The Veterinary Journal 195
(2013) 24–32*

Fig. 4. Example of standard housing for rabbits in two different animal facilities in Europe. (a) Standard rabbit housing at GDL, The Netherlands; (b) standard rabbit housing at Novo Nordisk A/S, Denmark.

Responsable(s) bien-être animal :

Surveiller le bien-être des animaux dans l'établissement...

1. Veiller à ce que le personnel s'occupant des animaux ait accès aux informations spécifiques sur les espèces...

2. S'assurer que :

- a. *Toute douleur... inutilement infligés à un animal lors d'une procédure expérimentale soient interrompues ;*
- b. *Chaque projet soit exécuté conformément à l'autorisation*
- c. *et, en cas de non-conformité, veiller à ce que les mesures appropriées soient prises et consignées par écrit ;*
- d. *Tenir à jour un tableau de suivi permettant de s'assurer que le personnel dispose d'un niveau d'études, de compétences et d'une formation continue adéquats....*

Structure chargée du bien-être des animaux (1) :

- Chez tout éleveur, fournisseur ou utilisateur
- Comprend au moins
 - la ou les personnes *responsables du bien-être des animaux et des soins* qui leur sont donnés
 - dans le cas d'un utilisateur, *un scientifique*.
- La structure chargée du bien-être des animaux bénéficie également des conseils du *vétérinaire désigné*

Structure chargée du bien-être des animaux (2) :

Rôles de *conseil* :

- a) Conseiller le personnel qui s'occupe des animaux sur des questions relatives au bien-être des animaux
- b) Conseiller le personnel sur l'application des exigences des 3Rs
- c) Etablir les processus de contrôle, de rapport et de suivi en ce qui concerne le bien-être des animaux

Structure chargée du bien-être des animaux (3) :

Rôles de *conseil* :

- d) Suivre l'évolution et les résultats des projets en tenant compte des effets sur les animaux utilisés, en recensant les éléments qui contribuent aux 3Rs
- e) Echanger des informations avec les responsables de la mise en œuvre générale des projets en vue d'une éventuelle demande de modification des autorisations de projet ;
- f) Fournir des conseils sur les programmes de placement des animaux, y compris sur la nécessité de socialiser les animaux à placer.

La recherche médicale avance grâce à la recherche animale. Ainsi, c'est grâce à elle qu'ont abouti toutes les découvertes récompensées par un prix Nobel depuis 1979, à l'exception d'une seule**. Retour sur quelques-unes des plus emblématiques de ces 100 dernières années.

* Les dates mentionnées sont celles des remises du Prix Nobel de médecine aux lauréats.
** 1962, prix Nobel décerné à Barbara McClintock pour son travail sur la génétique.



Nécessité de l'utilisation des animaux en recherche

*3Rs
Bientraitance des animaux*

COMMUNICATION



Figure 30. Rats are sensitive animals who deserve to be treated with consideration of their well-being.