# VETAGRO SUP
## CAMPUS VETERINAIRE DE LYON

Année 2016 - Thèse n°110

***SUIVI ET DETERMINATION DE PHENOTYPES INVALIDANTS SUR DES LIGNEES MURINES DANS UN CENTRE DE PHENOGENOMIQUE***

# THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 14 décembre 2016
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

*Arthur HUMBERT*
Né le 9 février 1990
à *Annecy (74)*

# VETAGRO SUP

## CAMPUS VETERINAIRE DE LYON

Année 2016 - Thèse n°110

***SUIVI ET DETERMINATION DE PHENOTYPES INVALIDANTS SUR DES LIGNEES MURINES DANS UN CENTRE DE PHENOGENOMIQUE***

# THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 14 décembre 2016
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

*Arthur HUMBERT*
Né le 9 février 1990
à *Annecy (74)*

# LISTE DES ENSEIGNANTS DU CAMPUS VÉTÉRINAIRE DE LYON

***Tableau 1 :*** *Liste des enseignants du campus vétérinaire de Lyon (Mise à jour le 09 juin 2015)*

| Civilité | Nom | Prénom | Unités pédagogiques | Grade |
|---|---|---|---|---|
| M. | ALOGNINOUWA | Théodore | Pathologie du bétail | Professeur |
| M. | ALVESDEOLIVEIRA | Laurent | Gestion des élevages | Maître de conférences |
| Mme | ARCANGIOLI | Marie-Anne | Pathologie du bétail | Maître de conférences |
| M. | ARTOIS | Marc | Santé Publique et Vétérinaire | Professeur |
| M. | BARTHELEMY | Anthony | Anatomie Chirurgie (ACSAI) | Maître de conférences Contractuel |
| Mme | BECKER | Claire | Pathologie du bétail | Maître de conférences |
| M. | BELLI | Patrick | Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie | Maître de conférences Contractuel |
| Mme | BENAMOUSMITH | Agnès | Équine | Maître de conférences |
| M. | BENOIT | Etienne | Biologie fonctionnelle | Professeur |
| M. | BERNY | Philippe | Biologie fonctionnelle | Professeur |
| Mme | BERTHELET | Marie-Anne | Anatomie Chirurgie (ACSAI) | Maître de conférences |
| Mme | BONNETGARIN | Jeanne-Marie | Biologie fonctionnelle | Professeur |
| Mme | BOULOCHER | Caroline | Anatomie Chirurgie (ACSAI) | Maître de conférences |
| M. | BOURDOISEAU | Gilles | Santé Publique et Vétérinaire | Professeur |
| M. | BOURGOIN | Gilles | Santé Publique et Vétérinaire | Maître de conférences |
| M. | BRUYERE | Pierre | Biotechnologies et pathologie de la reproduction | Maître de conférences Stagiaire |
| M. | BUFF | Samuel | Biotechnologies et pathologie de la reproduction | Maître de conférences |
| M. | BURONFOSSE | Thierry | Biologie fonctionnelle | Maître de conférences |
| M. | CACHON | Thibaut | Anatomie Chirurgie (ACSAI) | Maître de conférences Stagiaire |
| M. | CADORE | Jean-Luc | Pathologie médicale des animaux de compagnie | Professeur |
| Mme | CALLAITCARDINAL | Marie-Pierre | Santé Publique et Vétérinaire | Maître de conférences |
| M. | CAROZZO | Claude | Anatomie Chirurgie (ACSAI) | Maître de conférences |
| M. | CHABANNE | Luc | Pathologie médicale des animaux de compagnie | Professeur |
| Mme | CHALVETMONFRAY | Karine | Biologie fonctionnelle | Professeur |
| M. | COMMUN | Loïc | Gestion des élevages | Maître de conférences |
| Mme | DE BOYER DES ROCHES | Alice | Gestion des élevages | Maître de conférences |
| Mme | DELIGNETTEMULLER | Marie-Laure | Biologie fonctionnelle | Professeur |
| M. | DEMONT | Pierre | Santé Publique et Vétérinaire | Professeur |
| Mme | DESJARDINS PESSON | Isabelle | Équine | Maître de conférences Contractuel |
| Mme | DJELOUADJI | Zorée | Santé Publique et Vétérinaire | Maître de conférences |
| Mme | ESCRIOU | Catherine | Pathologie médicale des animaux de compagnie | Maître de conférences |
| M. | FAU | Didier | Anatomie Chirurgie (ACSAI) | Professeur |
| Mme | FOURNEL | Corinne | Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie | Professeur |
| M. | FRANCK | Michel | Gestion des élevages | Professeur |
| M. | FREYBURGER | Ludovic | Santé Publique et Vétérinaire | Maître de conférences |
| M. | FRIKHA | Mohamed-Ridha | Pathologie du bétail | Maître de conférences |
| Mme | GILOTFROMONT | Emmanuelle | Santé Publique et Vétérinaire | Professeur |
| M. | GONTHIER | Alain | Santé Publique et Vétérinaire | Maître de conférences |
| Mme | GRAIN | Françoise | Gestion des élevages | Professeur |
| M. | GRANCHER | Denis | Gestion des élevages | Maître de conférences |
| Mme | GREZEL | Delphine | Santé Publique et Vétérinaire | Maître de conférences |
| M. | GUERIN | Pierre | Biotechnologies et pathologie de la reproduction | Professeur |
| Mme | HUGONNARD | Marine | Pathologie médicale des animaux de compagnie | Maître de conférences |
| M. | JUNOT | Stéphane | Anatomie Chirurgie (ACSAI) | Maître de conférences |
| M. | KECK | Gérard | Biologie fonctionnelle | Professeur |
| M. | KODJO | Angeli | Santé Publique et Vétérinaire | Professeur |
| Mme | LAABERKI | Maria-Halima | Santé Publique et Vétérinaire | Maître de conférences |
| M. | LACHERETZ | Antoine | Santé Publique et Vétérinaire | Professeur |
| Mme | LAMBERT | Véronique | Gestion des élevages | Maître de conférences |
| Mme | LATTARD | Virginie | Biologie fonctionnelle | Maître de conférences |
| Mme | LE GRAND | Dominique | Pathologie du bétail | Professeur |
| Mme | LEBLOND | Agnès | Santé Publique et Vétérinaire | Professeur |
| M. | LEPAGE | Olivier | Équine | Professeur |
| Mme | LOUZIER | Vanessa | Biologie fonctionnelle | Maître de conférences |
| M. | MARCHAL | Thierry | Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie | Professeur |
| Mme | MIALET | Sylvie | Santé Publique et Vétérinaire | Inspecteur en santé publique vétérinaire (ISPV) |
| Mme | MICHAUD | Audrey | Gestion des élevages | Maître de conférences |
| M. | MOUNIER | Luc | Gestion des élevages | Maître de conférences |
| M. | PEPIN | Michel | Santé Publique et Vétérinaire | Professeur |
| M. | PIN | Didier | Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie | Maître de conférences |
| Mme | PONCE | Frédérique | Pathologie médicale des animaux de compagnie | Maître de conférences |
| Mme | PORTIER | Karine | Anatomie Chirurgie (ACSAI) | Maître de conférences |
| Mme | POUZOTNEVORET | Céline | Anatomie Chirurgie (ACSAI) | Maître de conférences |
| Mme | PROUILLAC | Caroline | Biologie fonctionnelle | Maître de conférences |
| Mme | REMY | Denise | Anatomie Chirurgie (ACSAI) | Professeur |
| M. | ROGER | Thierry | Anatomie Chirurgie (ACSAI) | Professeur |
| M. | SABATIER | Philippe | Biologie fonctionnelle | Professeur |
| M. | SAWAYA | Serge | Anatomie Chirurgie (ACSAI) | Maître de conférences |
| Mme | SEGARD | Emilie | Anatomie Chirurgie (ACSAI) | Maître de conférences Contractuel |
| Mme | SERGENTET | Delphine | Santé Publique et Vétérinaire | Maître de conférences |
| Mme | SONET | Juliette | Anatomie Chirurgie (ACSAI) | Maître de conférences Contractuel |
| M. | THIEBAULT | Jean-Jacques | Biologie fonctionnelle | Maître de conférences |
| M. | VIGUIER | Eric | Anatomie Chirurgie (ACSAI) | Professeur |
| Mme | VIRIEUXWATRELOT | Dorothée | Pathologie morphologique et clinique des animaux de compagnie | Maître de conférences Contractuel |
| M. | ZENNER | Lionel | Santé Publique et Vétérinaire | Professeur |

## REMERCIEMENTS

**À Monsieur le Professeur Frédéric BERARD,**
*De la Faculté de Médecine de Lyon,* ***Président du jury,***

Qui me fait l'honneur de présider ce jury de thèse,
Mes sincères remerciements.

**Au Docteur Delphine GREZEL,**
*Du Campus Vétérinaire de VetAgro Sup,* ***premier assesseur,***

Pour avoir accepté immédiatement de suivre mon travail de thèse,
Pour m'avoir accompagné durant mes études et ma découverte du monde de la recherche,
Mes sincères remerciements.

**À Madame le Professeur Denise REMY,**
*Du Campus Vétérinaire de VetAgro Sup,* ***second assesseur,***

Pour avoir accepté de faire partie de mon jury sans hésitation,
Pour votre gentillesse et votre disponibilité,
Mes sincères remerciements.

**Au Docteur Marcel GYGER,**
*De l'EPFL,* ***membre invité du jury,***

Pour m'avoir accompagné tout au long de mon travail et pour votre disponibilité,
Pour m'avoir fait confiance et pour votre soutien soutenu dans mes choix
Mes sincères remerciements.

**Au Docteur Xavier WAROT,** directeur du CPG,

Merci de m'avoir fait confiance et de m'avoir permis de réaliser ce travail au sein du CPG.

**Au Docteur Emilie GESINA,**

Merci de ta disponibilité permanente et pour nos discussions qui ont assurément nourri ce travail.

**Au Docteur Gisèle FERRAND,**

Merci pour ta bonne humeur et ta disponibilité qui m'ont été d'une grande aide ; au plaisir de travailler ensemble très bientôt.

**À Damiano BANFI,**

Sans qui CaseTracker ne serait qu'une idée. Merci pour ta disponibilité, ton écoute et tes avis toujours essentiels.

**À Isabelle BARDE,**

Merci pour ton écoute et tes corrections qui ont permis d'améliorer mon travail.

**À tous les membres du CPG,**

Merci pour votre écoute et votre participation à la mise en place de CaseTracker et à l'élaboration de cette thèse.

**À Diana, Sandrine, Guilhem, Etienne, Claudine et Anaïs,**

Merci pour tous ces moments complices passés dans le meilleur des groupes de clinique, merci pour tout ce que vous m'avez apporté.

**À mes parents,**

Merci pour votre soutien tout au long de mes études et pour vos corrections apportées à ce rapport.

**À toi Jessica, mon Amour,**

Pour ta présence à mes côtés, pour ton soutien sans faille, pour l'amour de que je lis dans ton regard et pour tout ce que nous partagerons encore ensemble.

Merci infiniment.

***“Le commencement de toutes les sciences, c’est l’étonnement de ce que les choses sont ce qu’elles sont.”***

Aristote

# Table des matières


**TABLE DES MATIÈRES** ..... **7**

**TABLE DES FIGURES** ..... **9**

**TABLE DES TABLEAUX** ..... **10**

**INTRODUCTION** ..... **11**

**PRÉAMBULE – DE L'ÉTHIQUE À LA RÉGLEMENTATION** ..... **12**

**1. ANTHROPOZOOLOGIE** ..... **12**

**2. HISTORIQUE DE LA PROTECTION ANIMALE DANS LA LÉGISLATION** ..... **15**

2.1. Premières considérations juridiques de l'animal en France ..... 15

2.2. Évolutions au cours du XX$^{ème}$ siècle ..... 15

2.3. Nouveau statut de l'animal différent du bien-meuble (2015) ..... 16

2.4. Éthique et expérimentation animale ..... 17

**PARTIE I – LÉGISLATION ET ÉTHIQUE EN EXPÉRIMENTATION ANIMALE** ..... **19**

**1. COMPARAISON DU CADRE RÈGLEMENTAIRE FRANÇAIS ET SUISSE** ..... **19**

1.1. Bases législatives portant sur la condition animale ..... 19

1.2. Réglementation appliquée aux animaux de laboratoire en Europe ..... 22

**2. EXPÉRIMENTATION ANIMALE EN SUISSE** ..... **26**

2.1. Situation actuelle ..... 26

2.2. Expérimentation animale et réglementation ..... 27

2.3. Cas particulier des animaux génétiquement modifiés ..... 32

**PARTIE II – CAS PARTICULIER DES ANIMAUX TRANSGÉNIQUES** ..... **36**

**1. L'UTILISATION DE LA TRANSGÉNÈSE** ..... **38**

1.1. L'étude des gènes ..... 38

1.2. La transgénèse ..... 39

**2. LA TRANSGÉNÈSE ANIMALE EN RECHERCHE** ..... **42**

2.1. Intérêts de l'utilisation d'organismes transgéniques et principales applications ..... 42

2.2. Techniques de transgénèse ..... 51

2.3. Nomenclature actuelle ..... 61

**3. LIMITES DE L'UTILISATION DES ANIMAUX TRANSGÉNIQUES** ..... **63**

3.1. Ensembles de contraintes imposées aux animaux ..... 63

3.2. Complexité génétique du vivant ..... 66

3.3. Transposition à l'être humain ..... 68

3.4. Abord éthique de la transgénèse ..... 68

**PARTIE III – GESTION DES PHÉNOTYPES INVALIDANTS À L'EPFL PAR LA MISE EN PLACE D'UN SYSTÈME INFORMATIQUE DE DÉTECTION ET DE CARACTÉRISATION ..... 70**

**1. CONTEXTE ..... 70**
1.1. Présentation de la structure hôte ..... 71
1.2. Système existant et transition ..... 73
**2. MISE EN PLACE D'UN OUTIL ..... 76**
2.1. Choix d'une stratégie ..... 76
2.2. CaseTracker ..... 79
2.3. Enquête sur l'utilisation par les équipes ..... 90
2.4. Documentation papier ..... 100
**3. INTÉGRATION DE CASETRACKER DANS LE FONCTIONNEMENT DE L'ANIMALERIE ET LA ZOOTECHNIE .. 102**
3.1. Respect de l'obligation réglementaire de déclaration des lignées à phénotype invalidant 102
3.2. Mesures préventives et curatives dans le cas de lignée à phénotype invalidant ..... 102
3.3. Exemple ..... 103
**4. LIMITES ..... 106**
4.1. Limites liées aux interprétations de la législation actuelle ..... 106
4.2. Limites liées au système actuel ..... 109
**5. BILAN DE CASETRACKER ..... 113**

**CONCLUSION ..... 114**

**BIBLIOGRAPHIE ..... 115**

**GLOSSAIRE ..... 119**

**ANNEXES ..... 121**

**1. ANNEXES RELATIVES AU PRÉAMBULE : ANTHROPOZOOLOGIE ..... 122**
**2. ANNEXES RELATIVES À LA PREMIÈRE PARTIE ..... 135**
**3. ANNEXES RELATIVES À LA DEUXIÈME PARTIE ..... 149**
**4. ANNEXES RELATIVES À LA TROISIÈME PARTIE ..... 158**

# Table des figures


***Figure 1 :*** *Aperçu de quelques œuvres traduisant les relations Homme/animal à travers l'Histoire* ..... 12
***Figure 2 :*** *Pyramide de la hiérarchie des normes en droit français (a.) et suisse (b.)* ..... 19
***Figure 3 :*** *Principaux sites hébergeant des animaux d'expérimentation à l'échelle nationale* ..... 26
***Figure 4 :*** *Évolution du nombre d'animaux expérimentaux utilisés en Suisse de 1983 à 2015* ..... 27
***Figure 5 :*** *Processus d'autorisation d'expérimentation* ..... 32
***Figure 6 :*** *Dates clés liées au développement de la transgénèse animale* ..... 40
***Figure 7 :*** *Principes de l'optogénétique* ..... 43
***Figure 8 :*** *Principe du knock-out* ..... 47
***Figure 9 :*** *Principe du knock-in* ..... 47
***Figure 10 :*** *Invalidation d'un gène de sélection positive par recombinaison Cre-Lox* ..... 48
***Figure 11 :*** *Fonctionnement du système Cas9* ..... 50
***Figure 12 :*** *Grandes étapes pour la génération d'une lignée transgénique* ..... 51
***Figure 13 :*** *Principe de création d'un vecteur viral de transgénèse* ..... 54
***Figure 14 :*** *Étapes principales de l'obtention de souris transgéniques par micro-injection pronucléaire* ..... 56
***Figure 15 :*** *Étapes de la transgénèse par utilisation de cellules ES* ..... 58
***Figure 16 :*** *Exemple de désignation d'une lignée transgénique* ..... 62
***Figure 17 :*** *Schéma d'élevage de mâles transgéniques stériles* ..... 64
***Figure 18 :*** *Schémas des paramètres pouvant influencer le phénotype* ..... 67
***Figure 19 :*** *Logos de l'EPFL et du CPG* ..... 71
***Figure 20 :*** *Logo du logiciel © PyRAT* ..... 73
***Figure 21 :*** *Interface de la base de données PyRAT* ..... 74
***Figure 22 :*** *Exemple des données concernant une cage dans PyRAT (a) et étiquette correspondante générée (b)* ..... 74
***Figure 23 :*** *Schéma des différences entre études prospective et rétrospective* ..... 77
***Figure 24 :*** *Prototype de logo CaseTracker* ..... 79
***Figure 25 :*** *Interface de CaseTracker* ..... 80
***Figure 26 :*** *Accès aux différentes fonctions de CaseTracker* ..... 81
***Figure 27 :*** *Fiche résumé de la sélection des animaux concernés par le cas dans une cage* ..... 82
***Figure 28 :*** *interface de description du cas* ..... 83
***Figure 29 :*** *Interface de choix des observations, anomalies ou symptômes* ..... 84
***Figure 30 :*** *Visualisation d'un nouveau cas* ..... 85
***Figure 31 :*** *Visualisation des syptômes du cas* ..... 86
***Figure 32 :*** *Interface de choix d'un diagnostic* ..... 86
***Figure 33 :*** *Liste des diagnostics rencontrés* ..... 87
***Figure 34 :*** *Interface de choix du traitement* ..... 87
***Figure 35 :*** *Choix de l'issue d'un cas* ..... 88
***Figure 36 :*** *Outil d'analyse statistique de CaseTracker* ..... 89
***Figure 37 :*** *Gestion de CaseTracker* ..... 90
***Figure 38 :*** *Connaissance ou non de la raison de la mise en place de CaseTracker* ..... 91
***Figure 39 :*** *Qualité jugée de la formation à l'utilisation de CaseTracker* ..... 92
***Figure 40 :*** *Qualité jugée de l'accompagnement lors des premières utilisations de CaseTracker* ..... 92
***Figure 41 :*** *Degré de simplicité jugé concernant l'utilisation de CaseTracker* ..... 93
***Figure 42 :*** *Degré de charge de travail supplémentaire suite à la mise en place de CaseTracker* ..... 94
***Figure 43 :*** *Difficultés ou non rencontrées lors de l'utilisation de CaseTracker* ..... 95
***Figure 44 :*** *Points positifs et négatifs rapportés par les animaliers et classés par ordre décroissant de fréquence* ..... 97
***Figure 45 :*** *Problèmes ou non posés par CaseTracker dans certaines situations.* ..... 98
***Figure 46 :*** *Mises à jour de CaseTracker jugées utiles ou non* ..... 100
***Figure 47 :*** *Bien-être des animaux jugé amélioré ou non par la mise en place de CaseTracker* ..... 100
***Figure 48 :*** *Bison polychrome d'Altamira* ..... 122
***Figure 49 :*** *Exemple de hiéroglyphes représentant différentes espèces animales* ..... 123
***Figure 50 :*** *Papyrus d'Ani du Livre des Morts* ..... 124

***Figure 51 :*** *Principaux zoomorphismes des divinités égyptiennes* ..... *125*
***Figure 52 :*** *Tétradrachme athénien représentant Athéna (gauche) et symbolisée par la chouette (droite)* ..... *127*
***Figure 53 :*** *Saint François prêchant aux oiseaux* ..... *130*
***Figure 54 :*** *Dates clés de l'histoire de la génétique* ..... *150*
***Figure 55 :*** *Structure moléculaire des nucléotides composant l'ADN* ..... *151*
***Figure 56 :*** *Représentation schématique de l'ADN et de ses constituants* ..... *151*
***Figure 57 :*** *Liaisons entres bases azotées de l'ADN formant sa structure moléculaire* ..... *152*
***Figure 58 :*** *Principe de la réplication de l'ADN* ..... *153*
***Figure 59 :*** *Principe de la transcription de l'ADN en ARN* ..... *154*
***Figure 60 :*** *Principe de l'épissage alternatif conduisant à deux protéines différentes à partir de la même information génétique* ..... *155*
***Figure 61 :*** *Schéma d'un gène* ..... *156*
***Figure 62 :*** *Nomenclature utilisée pour la désignation des lignées de souris* ..... *157*
***Figure 63 :*** *Organigramme simplifié du CPG* ..... *158*
***Figure 64 :*** *Exemple de fiche de traitement (ancien système)* ..... *161*
***Figure 65 :*** *Fiche de traitement (CaseTracker)* ..... *161*
***Figure 66 :*** *Fiche de suivi (CaseTracker)* ..... *161*
***Figure 67 :*** *Premier sondage* ..... *162*
***Figure 68 :*** *Second sondage* ..... *163*
***Figure 69 :*** *Qualité jugée de la formation à l'utilisation de CaseTracker dans les différentes animaleries du CPG* ... *164*
***Figure 70 :*** *Qualité jugée de l'accompagnement lors des premières utilisations de CaseTracker dans les différentes animaleries du CPG* ..... *164*
***Figure 71 :*** *Exemple de succession d'individus apparentés* ..... *169*
***Figure 72 :*** *Exemples de lignées selon différentes définitions* ..... *170*

# Table des tableaux

***Tableau 1 :*** *Liste des enseignants du campus vétérinaire de Lyon (Mise à jour le 09 juin 2015)* ..... *3*
***Tableau 2 :*** *Comparatif des degrés de gravité établis par les réglementations européenne et suisse* ..... *30*
***Tableau 3 :*** *Comparaison des mesures de contrôles des contraintes entre l'Union Européenne et la Suisse* ..... *33*
***Tableau 4 :*** *Différentes techniques de création d'animaux génétiquement modifiés* ..... *37*
***Tableau 5 :*** *Avantages et inconvénients comparés des trois techniques principales de transgénèses* ..... *52*
***Tableau 6 :*** *Tableur Excel de recueils des cas d'animaux malades (avant mise en place de CaseTracker)* ..... *75*
***Tableau 7 :*** *Avantages et inconvénients des études prospectives et rétrospectives* ..... *77*
***Tableau 8 :*** *Résumé des objectifs de la base de données prévue* ..... *78*
***Tableau 9 :*** *Résumé des dates clés de la mise en place de CaseTracker* ..... *90*
***Tableau 10 :*** *Les éléments clés du système d'évaluation du bien-être des rongeurs génétiquement modifiés* ..... *136*
***Tableau 11 :*** *Degrés de contraintes réglementaires concernant les rongeurs de laboratoire* ..... *137*
***Tableau 12 :*** *Nombre d'animaux expérimentaux selon les espèces animales et le domaine d'utilisation* ..... *138*
***Tableau 13 :*** *Caractérisation de la contrainte chez les lignées de petits rongeurs génétiquement modifiées et chez les mutants présentant un phénotype invalidant* ..... *141*
***Tableau 14 :*** *Fiche de contrôle de la surveillance des contraintes animales* ..... *167*
***Tableau 15 :*** *Recueil des contraintes* ..... *168*

# Introduction

*« L'éthique, ce n'est pas pour répondre aux questions faciles. On l'utilise dans cette zone grise où des dilemmes émergent parce qu'il y a différentes visions, basées sur différents repères, sur ce qui est bon de faire »,*

Bryn Williams-Jones

Si les relations étroites ont toujours lié l'Homme au monde animal, la considération de celui-ci était inégale au cours de l'Histoire. Alors que durant l'Antiquité l'animal tenait une place prépondérante dans la spiritualité, il fut rapidement réduit à l'utilité qu'il pouvait présenter en même temps que les progrès techniques étaient réalisés.

Des penseurs se sont néanmoins succédés sur des réflexions portant sur la place de l'animal dans nos sociétés et également sur le statut juridique à lui accorder. Depuis les prémices en matière de législation de protection des animaux, celle-ci a dû évoluer en même temps que des nouveaux enjeux apparaissaient, les utilisations de l'animal étant de plus en plus variées et de plus en plus techniques.

Ainsi, avec l'essor de l'expérimentation animale, les contraintes imposées aux animaux se sont vues augmentées, et il a donc fallu imaginer des règles ne ciblant pas uniquement les mauvais traitements infligés, mais également des mesures de protection.

Aujourd'hui, l'expérimentation animale semble en recul du fait de la découverte d'outils de recherche alternatifs. Néanmoins, la proportion d'animaux génétiquement modifiés utilisés ne cesse d'augmenter à travers le monde, avec l'utilisation de techniques de plus en plus poussées. Ce développement de la transgénèse a conduit à l'apparition de nouvelles contraintes pour l'animal, d'origine génétique. Elles rendent plus délicate la manière d'aborder la santé et le bien-être animal.

Le système juridique, qu'il s'agisse de la réglementation française ou de la règlementation suisse en particulier (qui constitue le cadre de référence de mon travail de thèse à l'occasion de plusieurs périodes de stage à l'EPFL de 2014 à 2016) s'est donc doté d'une loi spécifique aux animaux génétiquement modifiés. Par la suite, il a donc fallu se conformer aux nouvelles règles et mettre en place des systèmes adaptés pour les structures accueillant ces animaux.

Cet exposé a pour objectif d'apporter une réflexion sur la santé et le bien-être des animaux génétiquement modifiés utilisés en laboratoire. Il m'est pour cela apparu essentiel d'ancrer les relations entre l'Homme et l'animal dans le contexte historique et juridique ayant conduit à la situation actuelle (préambule et première partie). Par ailleurs, il est nécessaire de se pencher sur les modifications permises par le génie génétique à l'heure actuelle afin d'appréhender au mieux les risques pour les animaux, mais aussi les possibilités de les gérer (deuxième partie). Plus particulièrement, dans ce contexte précis, il a fallu mettre en place des outils de détection et de gestion de phénotypes invalidants chez les rongeurs dans les structures de recherche utilisant des animaux en Suisse. J'ai donc participé à l'élaboration et la mise en place du système informatique CaseTracker à l'École Polytechnique Fédérale de Lausanne afin de répondre efficacement à la réglementation en vigueur et aux nouveaux enjeux de la recherche utilisant l'animal (troisième partie).

# Préambule – De l'Éthique à la réglementation

En abordant ce sujet complexe, il est apparu comme étroitement imbriqué à un contexte précis, à la fois historique, réglementaire et éthique. Ce préambule vise donc à introduire mon travail par un tour d'horizon historique des relations entre l'Homme et l'animal dans un premier temps, puis de la protection animale du point de vue juridique et éthique.

## 1. ANTHROPOZOOLOGIE

L'anthropozoologie, consiste en l'étude des rapports entre le monde animal et les sociétés humaines et de leurs évolutions au cours du temps. Cette discipline est essentielle à la compréhension des étroites interactions que nous entretenons avec les animaux. Cette partie constitue un aperçu de ces relations de toujours et pourra être enrichi par la lecture du contenu complémentaire détaillé placé en annexes *(Cf. Erreur ! Source du renvoi introuvable.)*.

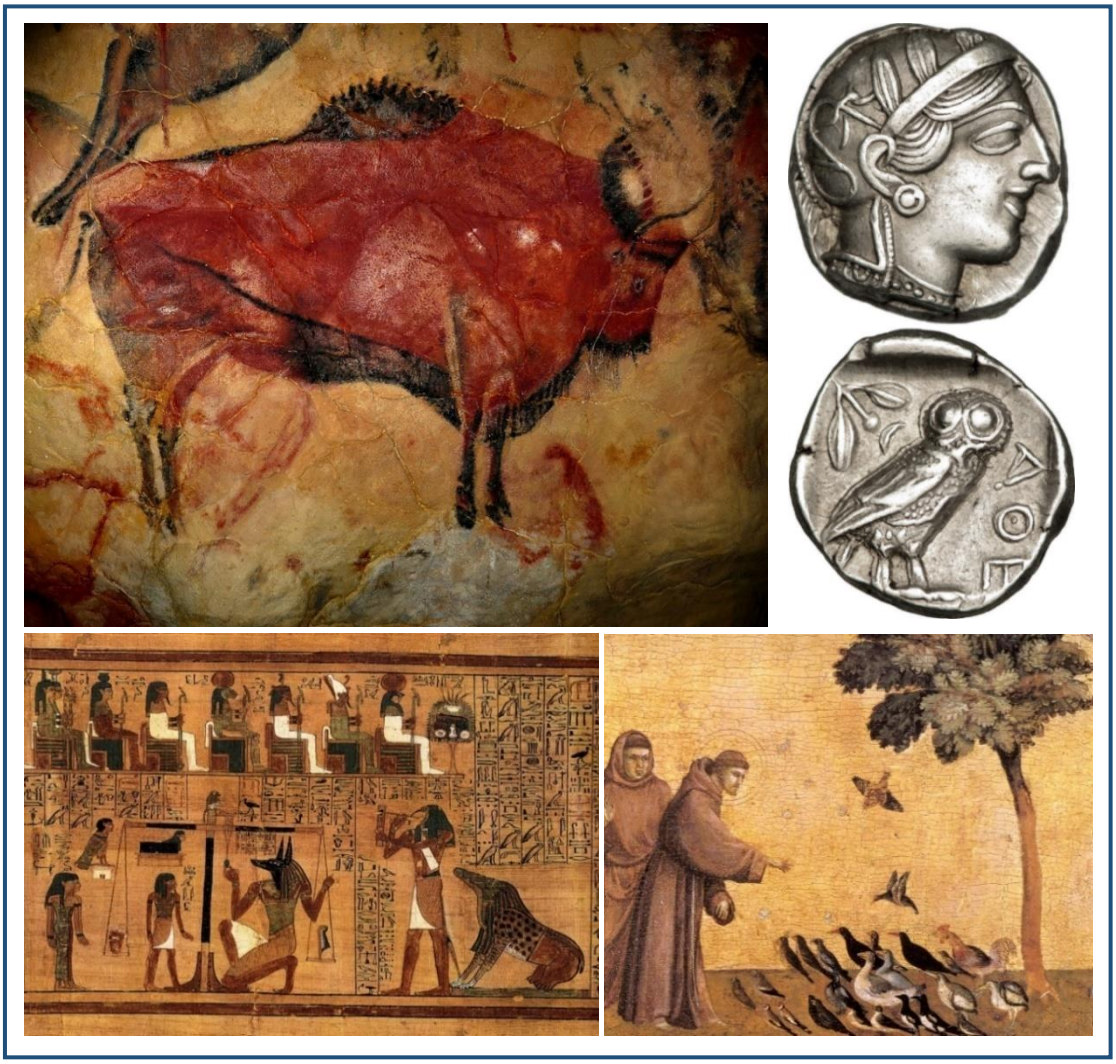

***Figure 1 :*** *Aperçu de quelques œuvres traduisant les relations Homme/animal à travers l'Histoire*[1]

[1] Muséum de Altamira, Wikimedia Commons, *Reproduction d'un bison de la grotte d'Altamira*; Wikimedia Commons, *Tétradrachme athénien représentant Athéna*; Livre des Morts d'Ani, British Museum, Wikimedia Commons, *La pesée du*

Les premières traces témoignant des contacts entre l'Homme et l'animal datent de la Préhistoire[2]. Durant l'antiquité, l'omniprésence des relations Homme/animaux est flagrante et on peut noter un parfait exemple dans la civilisation égyptienne.

Dans l'Égypte antique, l'animal occupe une place essentielle et est omniprésent dans la société. Aucune hiérarchie ne semble exister entre Homme et monde animal ; tous sont des éléments d'un tout[3]. Ainsi, les animaux font partie intégrante du panthéon égyptien puisque les dieux sont souvent des « hybrides » entre Hommes et animaux. Ils sont également indispensables aux habitants au quotidien, que ce soit pour l'agriculture, la chasse ou comme animaux de compagnie.

Dans la Grèce antique, les relations sont toujours étroites avec les animaux, et ceux-ci jouent encore le rôle de lien avec le divin en plus de leur utilité dans la vie courante. On peut y retrouver les prémices de la protection animale puisque Pythagore prône le végétarisme[4]. Il ne s'agit cependant pas d'une protection de l'être, mais plutôt du réceptacle potentiel d'âmes de défunts. Par la suite, Aristote établit une hiérarchie des éléments du cosmos avec l'Homme au-dessus des animaux, dominant eux-mêmes les végétaux, puis les minéraux. C'est également avec Aristote que débutent les premières dissections d'animaux dans le but de parfaire les connaissances de l'humanité. Plus tard, Galien a poussé les études anatomiques encore plus loin.

La pensée chrétienne, quant à elle, place clairement l'Homme comme dominateur du monde animal[5]. Il ne s'agit que d'outils à utiliser comme désiré. L'Église n'encourage ni ne condamne la cruauté envers les animaux. Seuls quelques ecclésiastiques constituent une exception dans la considération du monde animal. Ainsi, Saint François d'Assise encourage un amour fraternel envers les animaux, comme envers toutes les créations terrestres. Il considère que ne pas blesser les animaux autant que possible est un devoir pour l'Homme, et qu'il doit même les aider lorsqu'ils en ont besoin.

Durant la Renaissance, avec l'avènement de l'Humanisme, il aurait pu paraître logique que la protection animale devienne une évidence pour les penseurs de l'époque. Au lieu de cela, c'est le cartésianisme qui prit le pas sur les autres pensées, considérant l'animal comme une machine perfectionnée. De plus, les animaux ne sont pas décrits comme ayant la possibilité d'agir librement devant une situation, puisqu'ils sont contrôlés par leurs instincts. Dès lors, les interprétations rapides pouvaient conduire à une instrumentalisation de l'animal afin d'améliorer la société.

Au cours du XIX$^{ème}$ siècle, la théorie de l'évolution élaborée par Charles Darwin conduisit à une évolution du mode de pensée de la condition animale. En effet, l'animal n'apparaît plus dans ce cas comme étant totalement séparé de l'Homme par une frontière hermétique. Le vivant est une continuité et les différences existant entre l'Homme et l'animal ne sont plus qualitatives mais ne sont qu'une question de degrés. L'Homme ne présente que peu de caractéristiques exclusives par rapport aux autres animaux. L'animal est un être doué d'une sensibilité et doit par conséquent être traité convenablement.

---

*Coeur*; DI BONDONE, G., Musée du Louvre, *Prédelle du retable de Saint François d'Assise recevant les stigmates : Saint François prêchant aux oiseaux*.

[2] CHAVOT et al., « Des animaux, des hommes et des dieux ».

[3] GERMOND et LIVET, *Bestiaire égyptien*.

[4] JEAN-LOUIS, « Fondements philosophiques et juridiques du droit de l'animal ».

[5] Anonyme, *La Bible - Ancien et Nouveau Testament*, Genèse 1.26-28.

C'est durant le XIXème siècle que naissent les premières sociétés de protection animale. L'intérêt croissant pour la cause animale aboutit à la création de la RSPCA (Royal Society for the Prevention of Cruelty to Animals) en 1924 puis à celle de la SPA (Société Protectrice des Animaux) après-guerre, en 1945. En 1965, un organisme indépendant créé par le gouvernement du Royaume-Uni, le Farm Animal Welfare Council (FAWC), établit les 5 libertés fondamentales des animaux qui constitueront une base de réflexion dans le cadre de l'élaboration des textes réglementaires à venir[6]. Les animaux sont libres de :

- Ne pas souffrir de faim et de soif ;
- Ne pas souffrir de contrainte physique ;
- D'être indemnes de douleurs, de blessures et de maladies ;
- D'avoir la liberté d'exprimer des comportements normaux ;
- D'être protégés de la peur et de la détresse ;

L'éthique devient essentielle aux travaux de recherche utilisant des animaux. Il convient de définir ce qui est acceptable et ce qui ne l'est pas. Au nom de quoi est-il possible de mettre à mort des animaux ? Est-il acceptable d'exploiter l'animal en entraînant des souffrances ? Si oui, dans quel contexte et quelles sont les limites à se fixer ?

Russel et Burch, en 1959, pointent la nécessité de faire diminuer la souffrance animale dans le cadre de la recherche lorsqu'ils établissent les bases règles des 3R[7]. La souffrance a notamment un effet « psychosomatique » pouvant biaiser les résultats expérimentaux puisque l'état nerveux a un impact direct sur la physiologie animale. Par ailleurs, Peter Singer été l'un des penseurs précurseurs du changement de considération de l'animal dans l'opinion publique, notamment par la parution en 1975 de son ouvrage, *La libération animale*[8]. Il considère que la dignité d'un animal (Homme inclus) n'est pas fonction de sa capacité cognitive, mais uniquement de sa capacité à souffrir, physiquement ou psychiquement. L'expérimentation animale est donc permise selon sa pensée, à condition d'imposer le moins de souffrance possible, et que les résultats espérés soient conséquents.

Aujourd'hui, des comités d'éthiques, des juristes et les scientifiques eux-mêmes ont comme responsabilité de poser un cadre à l'utilisation de l'animal par l'Homme dans le cadre de la recherche, mais aussi de l'agriculture ou d'autres domaines (animaux de compagnie, faune sauvage…).

[6] BRAMBELL, *Report of the Technical Committee to Enquire Into the Welfare of Animals Kept Under Intensive Livestock Husbandry Systems*.
[7] RUSSELL et BURCH, *The Principles of Humane Experimental Technique*.
[8] SINGER, *La libération animale*.

## 2. HISTORIQUE DE LA PROTECTION ANIMALE DANS LA LÉGISLATION

Les extraits des textes juridiques cités dans cette partie sont répertoriés dans les ***Erreur ! Source du renvoi introuvable.***.

### 2.1. Premières considérations juridiques de l'animal en France

#### 2.1.1. Un premier statut juridique de l'animal : Code civil de 1804[9]

Le premier statut de l'animal apparut dans la première édition du Code civil français, en 1804. Il s'agit d'un statut utilitaire double :

- Bien meuble ***(article 528)*** : du fait qu'ils peuvent être déplacés ou se déplacer par eux-mêmes.
- Bien immeuble par destination ***(article 524)*** : lorsque les animaux servent à une exploitation par exemple.

La loi ne protège donc pas l'animal en tant que tel dans ce premier texte mais plutôt le propriétaire de celui-ci.

#### 2.1.2. Première loi de protection animale : La Loi Grammont (1850)[10]

Le 2 juillet 1850, une nouvelle loi est votée punissant les mauvais traitements envers les animaux : la loi Grammont.

> ***Loi Grammont :*** *Seront punis d'une amende de 5 à 15 francs, et pourront l'être d'un à cinq jours de prison, ceux qui auront exercé publiquement et abusivement de mauvais traitements envers les animaux domestiques.*[11]

Ce texte constitue une avancée dans la considération de l'animal mais elle vise avant tout à protéger la sensibilité des hommes puisque qu'il est désormais interdit d'exercer de mauvais traitements en public uniquement.

### 2.2. Évolutions au cours du XX$^{ème}$ siècle

#### 2.2.1. Suppression du caractère publique de la maltraitance animale : décret du 7 septembre 1959

Ce n'est que plus d'un siècle après l'entrée en vigueur de la loi Grammont que le caractère public de la maltraitance est retiré des textes. Il est désormais interdit d'exercer de mauvais traitements aux animaux, quelles que soient les circonstances. En plus d'une amende, déjà prévue par la loi Grammont, s'ajoutent des mesures de défense avec le placement possible auprès d'œuvres de protection.

---

[9] *Code civil*, 1804.
[10] Loi Grammont.
[11] Ibid., art. unique.

> ***Article 1er :*** *Ceux qui auront exercé sans nécessité, publiquement ou non, de mauvais traitements envers un animal domestique ou apprivoisé ou tenu en captivité ; en cas de condamnation du propriétaire de l'animal ou si le propriétaire est inconnu, le tribunal pourra décider que l'animal sera remis à une œuvre de protection animale reconnue d'utilité publique ou déclarée, laquelle pourra librement en disposer.*[12]

Le champ d'action est également élargi aux animaux apprivoisés ou tenus en captivité, mais l'animal sauvage n'est pas encore reconnu.

### 2.2.2. L'animal comme être sensible : loi n°76-629 du 10 juillet 1976

> ***Article 9 :*** *Tout animal étant un être sensible doit être placé par son propriétaire dans des conditions compatibles avec les impératifs biologiques de son espèce.*[13]

C'est dans cet important texte relatif à la protection de la nature qu'une défense des animaux est réellement instaurée. L'animal y est décrit comme un être sensible devant être placé, par son propriétaire, dans des conditions compatibles avec ses impératifs biologiques (***article 9***). Auparavant, l'animal était considéré comme un bien-meuble uniquement et pouvait être traité comme n'importe quel autre meuble (***article 10***). Il est désormais interdit de d'abandonner les animaux (***article 13***) et les dispositions pénales sanctionnant les mauvais traitements se renforcent.

### 2.2.3. Une première notion de bien-être animal : décret n°80-791 du 1er octobre 1980[14]

Le premier texte se préoccupant du bien-être animal, sans toutefois le citer, est le décret n°80-791, aujourd'hui article L214-3 du Code Rural. Il détaille les responsabilités de l'Homme envers l'animal ***(articles 1 et 2)***. Il est ainsi interdit de priver les animaux de nourriture et d'eau, de les priver de soins en cas de maladie ou blessure, de les héberger de manière inadaptée (trop peu de place, conditions climatiques ou infrastructures incompatibles…), entre autres… La sensibilité de l'animal est déjà juridiquement reconnue et ce texte précise le rôle de l'Homme dans la protection animale en lui évitant toute souffrance. Cependant, il n'est pas précisé que les conditions de détention et d'hébergement doivent permettre à l'animal d'exprimer ses comportements normaux.

## 2.3. Nouveau statut de l'animal différent du bien-meuble (2015)[15]

Ce n'est qu'en 2015 que l'animal est présenté comme doué de sensibilité dans la législation française dans le code civil ***(Article 515-14)***. Face à une pression sociale importante, à des connaissances scientifiques de plus en plus importantes concernant les animaux, et surtout à la nécessité de répondre aux exigences du traité de Lisbonne (2009), la modification des textes est devenue essentielle. Malgré ce nouveau statut, les animaux demeurent attachés au régime des bien-meubles et la portée de cette modification est donc avant tout symbolique.

---

[12] *Décret n°59-1051*.
[13] *Loi relative à la protection de la nature*.
[14] *Décret pris pour l'application de l'article 276 du code rural*.
[15] *Code civil*, 2015.

Cependant, il est à noter que la protection animale ne fait que progresser et il est difficile de fixer un cadre strict à des questions aussi complexes. Les problèmes suivants sont par exemple difficilement solubles juridiquement :

- Une séparation totale du statut de bien-meuble compliquerait la commercialisation d'animaux.
- Si aucune distinction entre animaux domestiques et faune sauvage n'était faite, il ne serait dès lors plus possible de lutter efficacement contre les nuisibles et de pratiquer la chasse.
- Classiquement, les animaux avec les capacités cognitives les plus élevées et ceux avec le système nerveux le plus développé sont les plus protégés car l'opinion publique y est plus attentive ; il en est de même pour les animaux des espèces menacées d'extinction. Cependant, les connaissances biologiques du monde animal s'améliorant de jours en jours, des découvertes quant à la sensibilité des différentes espèces conduiront certainement à réviser régulièrement les règles envers les animaux.

## 2.4. Éthique et expérimentation animale

Le terme éthique est issu du grec « ethos », signifiant « caractère, coutume, mœurs ». Il s'agit d'une recherche du juste lorsque des intérêts divergents se confrontent, d'une réflexion consistant à s'interroger sur quelle valeur privilégier. Elle est basée sur l'expérience des personnes impliquées, afin d'apporter une réponse juste à la question posée[16].

La protection animale, en particulier en expérimentation animale, fait partie de ces domaines que la réglementation seule ne peut suffire à encadrer. Celle-ci est basée sur des discussions éthiques, ayant débuté pour les plus importantes dans la seconde partie du XX$^{ème}$ siècle, notamment dans les années 60 (avec le bases des 3R[17]) et 70 (avec l'utilitarisme de Peter SINGER[18]).

La protection et le bien-être animal sont ainsi régis par la pesée des intérêts, imposant aux chercheurs de d'analyser l'utilité de leurs recherches afin de justifier l'utilisation d'animaux ainsi que leur nombre. Ce sont ensuite des comités de professionnels qui sont en charge de juger de la pertinence ou non d'une expérience, selon les bénéfices potentiels mis en rapport avec les atteintes possibles du bien-être animal. Ces évaluations de projets ont ainsi été imposés réglementairement en Europe depuis 2010.

En Suisse comme en Europe, et dans beaucoup d'autres pays, des comités d'éthique sont responsables de l'évaluation des projets de recherches basés sur l'expérimentation animale. Une évaluation favorable est nécessaire à l'obtention d'une autorisation de projet. Les comités possèdent le plus souvent une expertise pluridisciplinaire.

Que ce soit par la STE 123 ou la directive 2010/63/UE, le cadre réglementant l'expérimentation animale en Europe est basé sur les 3R[19]. La première occurrence de ces principes date de 1959 et sont issues d'un article de W. Russell et R. Burch[20].

---

[16] PLANTIER, « Cours d'éthique ».
[17] RUSSELL et BURCH, *The Principles of Humane Experimental Technique*.
[18] SINGER, *La libération animale*.
[19] FLECKNELL, « Replacement, Reduction and Refinement ».
[20] RUSSELL et BURCH, *The Principles of Humane Experimental Technique*.

Au centre de leur réflexion se trouvent les termes d'humanité et d'inhumanité. Le but des 3R est donc d'éliminer l'inhumanité des expériences réalisées sur les animaux. Celle-ci est décrite comme le fait d'imposer une « détresse » aux animaux. Il peut s'agir de douleur ou de peur, mais pas uniquement puisque la faim, l'inconfort physique ou encore la frustration d'un besoin (physique ou comportemental) en font également partie. L'Homme doit donc éviter toute procédure « inhumaine » aux animaux. Les 3R sont donc des grands principes vidant à réduire ou supprimer l'inhumanité dans le domaine de l'expérimentation animale.

Il s'agit de tout mettre en œuvre pour :

- Remplacer *(Replace)* l'utilisation de « vertébrés vivants conscients » par des « matériaux non sensibles » le plus souvent possible[21]. Aujourd'hui, ce terme regroupe l'utilisation de techniques alternatives lorsqu'elles permettent d'obtenir des résultats scientifiquement équivalents (cultures cellulaires, modélisations informatiques…).
- Réduire *(Reduce)* le nombre d'animaux utilisés tout en garantissant un résultat interprétable. Cela peut donc inclure des méthodes permettant d'optimiser la collecte de résultats afin de diminuer le nombre d'animaux à utiliser. Il est également possible d'utiliser un nombre d'animaux plus important pour une expérience donnée si cela peut permettre d'obtenir des résultats fiables et de ne pas répéter cette expérience par la suite.
- Raffiner *(Refine)* les méthodes utilisées afin de ne faire subir que des contraintes minimales aux animaux d'expérimentation. Cela concerne la réduction des douleurs ou stress générés par les expériences, mais aussi une optimisation de l'hébergement et des soins.

La directive 2010/63/UE insiste particulièrement sur les principes des 3R puisqu'elle exige explicitement la mise en œuvre des pratiques de remplacement, réduction et raffinement dans son préambule[22]. Ces principes sont également appliqués lors des processus d'examen éthique de surveillance ou d'évaluation des projets.

[21] TANNENBAUM et BENNETT, « Russell and Burch's 3Rs Then and Now ».
[22] Parlement européen et Conseil de l'Union Européenne, *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*.

# Partie I – Législation et éthique en expérimentation animale

La condition et l'exploitation des animaux par l'Homme est encadré par différents textes réglementaires. Si au niveau de l'Union Européenne le cadre juridique tend à s'harmoniser entre les différents membres, ce n'est pas le cas de tous les pays. La Suisse a ainsi créé son propre système juridique encadrant l'expérimentation animal qui, bien que répondant aux recommandations de comités d'experts internationaux, présente quelques particularités.

C'est à ce contexte réglementaire que j'ai dû me conformer dans le cadre de mon travail. Il semble ainsi intéressant de comparer les situations suisse et européenne qui ont beaucoup évolué au cours de ces dernières années, afin de répondre aux enjeux en perpétuels changements.

## 1. COMPARAISON DU CADRE RÈGLEMENTAIRE FRANÇAIS ET SUISSE

Les extraits des textes juridiques abordant la protection animale sont répertoriés dans les ***Annexes relatives à la première partie***.

### 1.1. Bases législatives portant sur la condition animale

Les différents textes réglementaires sont hiérarchisés de manière pyramidale. Ainsi, la norme de niveau le plus élevé est prépondérante sur celle de niveau moins élevé. Les nouvelles règles entrant en vigueur doivent ainsi respecter toutes les règles hiérarchiquement supérieures mais entraînent une modification des règles de même niveau et une abrogation des règles inférieures.

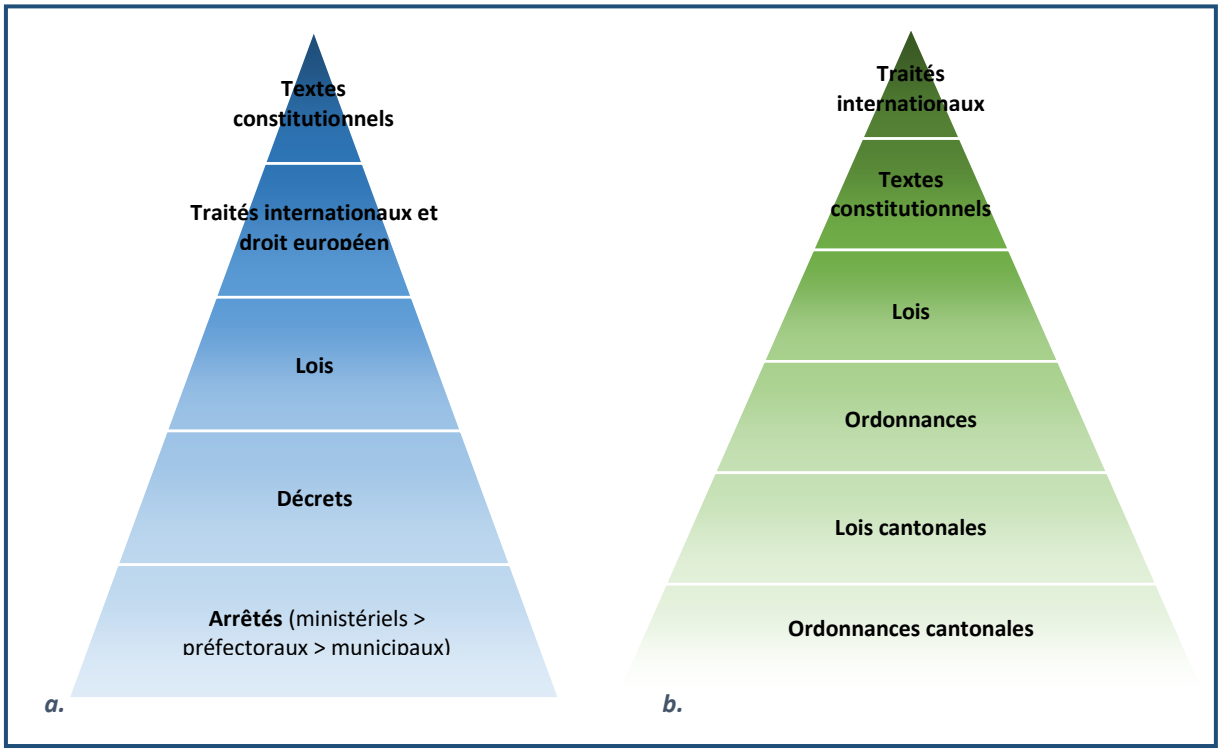


***Figure 2 :*** *Pyramide de la hiérarchie des normes en droit français (a.) et suisse (b.)*
*Les directives adoptées par l'Union Européenne, une fois ratifiées, sont transposées en décrets dans le système juridique français*

Dans les deux pays étudiés, les traités internationaux et les textes constitutionnels sont supérieurs aux lois, elles-mêmes supérieures aux ordonnances. La différence réside dans le fait qu'en France, la Constitution est considérée comme supérieure aux traités internationaux alors que la hiérarchie est inversée en Suisse. De plus, si la loi est fédérale, son application est cantonale. Les cantons possèdent donc cette responsabilité, conduisant à l'existence de textes réglementaires différents d'un canton à l'autre. Ces textes ont une hiérarchie moindre que ceux issus des instances fédérales puisqu'ils doivent en suivre les lignes directrices.

Une comparaison entre les systèmes européen/français et le système suisse en suivant la hiérarchie des normes réglementaires est instructive quant à la place accordée aux animaux dans chacune des législations.

### 1.1.1. Constitution et traités internationaux

Il convient de noter que la protection animale constitue l'une des préoccupations majeures de la législation suisse puisqu'elle y accorde une place dans sa constitution ***(articles 80 et 120)***, quand le droit français n'y fait aucune allusion.

*France*

Les grandes lignes des responsabilités de la Confédération Suisse sont ainsi énumérées dans la constitution. Elle régit la manière de traiter les animaux, leur utilisation, leur commerce, leur transport ou encore l'abattage. La constitution suisse cite également le thème de l'expérimentation animale.

Comme la constitution française n'aborde pas la protection animale, c'est la constitution de l'Union Européenne qui s'applique ***(Article III-121)***. Ce traité impose donc aux États membres, dont la France, de reconnaître l'animal comme un être sensible[23].

*Suisse*

Les grandes lignes des responsabilités de la Confédération Suisse sont ainsi énumérées dans la constitution ***(Article 80)***. Elle régit la manière de traiter les animaux, leur utilisation, leur commerce, leur transport ou encore l'abattage. La constitution suisse cite également le thème de l'expérimentation animale depuis sa grande révision de 1999[24].

[23] Traité établissant une Constitution pour l'Europe; *Traité de Lisbonne*.
[24] *Constitution fédérale de la Confédération suisse*.

### 1.1.2. Lois

*France*

La législation française confirme le statut de l'animal comme être sensible et impose de le traiter en accord avec ses impératifs biologiques ***(Article L214-1)***[25]. Elle ajoute qu'il est interdit de le soumettre à des mauvais traitements ***(Article L214-1)***. Le code pénal précise d'ailleurs les sanctions encourues en cas de mauvais traitements ***(Article 521-1)***[26].

La France doit, du fait de la réglementation européenne, tenir des statistiques annuelles en matière d'expérimentation animale[27].

*Suisse*

La législation suisse est là encore beaucoup plus détaillée que la législation française concernant la protection animale. Une loi est spécifiquement conçue en ce but, la Loi fédérale sur la Protection des Animaux (LPA)[28]. Elle définit la notion de bien-être animal, inspirées de 5 libertés établies en 1965[29]. Il correspond à une non perturbation de leurs fonctions corporelles et de leur comportement et une capacité d'adaptation non sollicitée excessivement. Ils doivent être également cliniquement sains et épargnés de la douleur, de maux, de dommages ou d'anxiété.

> ***Bien-être :*** *le bien-être des animaux est notamment réalisé :*
>
> ***1.*** *lorsque leur détention et leur alimentation sont telles que leurs fonctions corporelles et leur comportement ne sont pas perturbés et que leur capacité d'adaptation n'est pas sollicitée de manière excessive,*
>
> ***2.*** *lorsqu'ils ont la possibilité de se comporter conformément à leur espèce dans les limites de leur capacité d'adaptation biologique,*
>
> ***3.*** *lorsqu'ils sont cliniquement sains,*
>
> ***4.*** *lorsque les douleurs, les maux, les dommages et l'anxiété leur sont épargnés.*

Par ailleurs, la législation suisse se distingue par la notion de dignité de l'animal. La dignité de l'animal est atteinte lorsque la contrainte qui lui est imposée ne peut être justifiée par des intérêts prépondérants. Cela inclut une atteinte du bien-être comme précédemment décrit mais également un avilissement ; c'est-à-dire que son phénotype ou ses capacités sont profondément modifiés ou que l'animal est instrumentalisé de manière excessive.

> ***Dignité :*** *la valeur propre de l'animal, qui doit être respectée par les personnes qui s'en occupent; il y a atteinte à la dignité de l'animal lorsque la contrainte qui lui est imposée ne peut être justifiée par des intérêts prépondérants ; il y a contrainte notamment lorsque des douleurs, des maux ou des dommages sont causés à l'animal, lorsqu'il est mis dans un état d'anxiété ou avili, lorsqu'on lui fait subir des interventions modifiant profondément son phénotype ou ses capacités, ou encore lorsqu'il est instrumentalisé de manière excessive.*

---

[25] Code rural et de la pêche maritime.
[26] Code pénal.
[27] Conseil de l'Europe, *Directive du Conseil du 24 novembre 1986 concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives des États membres relatives à la protection des animaux utilisés à des fins expérimentales ou à d'autres fins scientifiques*.
[28] Assemblée fédérale de la Confédération suisse, *Loi fédérale sur la protection des animaux (LPA)*.
[29] BRAMBELL, *Report of the Technical Committee to Enquire Into the Welfare of Animals Kept Under Intensive Livestock Husbandry Systems*.

La loi aborde également la manière de traiter les animaux, ainsi que les conséquences pénales pour qui se rendrait coupable de mauvais traitements ou de négligence ***(articles 4 et 26)***.

Le cas particulier de l'expérimentation animale est également cité. Il est dit que les expériences pouvant causer des contraintes aux animaux doivent être limitées au maximum et que ces contraintes ne sont tolérées que si le but de l'expérience ne peut pas être atteint d'une autre manière ***(articles 17 et 20)***.

Enfin, une information du public en matière d'expérimentation animale est prévue par la LPA. L'Office fédéral de la Sécurité Alimentaire et des affaires Vétérinaires (OSAV) publie ainsi chaque année des informations sur les études en cours et des statistiques concernant l'expérimentation animale ***(article 20a)***[30].

## 1.2. Réglementation appliquée aux animaux de laboratoire en Europe[31]

En Europe, ce sont les textes internationaux issus du Conseil de l'Europe et de l'Union Européenne qui réglementent la protection, les soins et l'utilisation des animaux de laboratoire. Il s'agit de 2 textes principaux :

- La convention européenne sur la protection des animaux vertébrés utilisés à des fins expérimentales ou à d'autres fins scientifiques (STE 123) ;
- La directive 2010/63/UE.

Ces textes constituent les lignes directrices des exigences envers les animaux de laboratoire mais leur mise en œuvre à travers l'Europe peut varier d'un pays, voire d'une région à l'autre selon les différences de politique, de législation ou de pratiques en vigueur.

Les réglementations concernant les animaux de laboratoire ne suffisent pas à définir clairement tous les sujets ou les situations possibles. Ainsi, des organisations d'experts telles que la FELASA, l'ESLAV ou l'ECLAM publient régulièrement des recommandations, fondées sur des connaissances scientifiques et des débats éthiques, afin d'améliorer et d'harmoniser l'utilisation et les traitements des animaux de laboratoire. De plus, chaque État membre de l'Union Européenne doit se doter d'un comité d'éthique national ayant pour mission, entre autres, de dispenser des conseils à la communauté scientifique, notamment en vue d'appliquer au mieux les 3R.

### 1.2.1. La STE 123

La STE 123 (pour texte n°123 de la Série des Traités Européen) est un texte publié par le Conseil de l'Europe. Il s'agit d'une organisation intergouvernementale regroupant 47 pays membres, dont les membres de l'Union Européenne et la Suisse. Le Conseil de l'Europe n'a pas de pouvoir législatif et ne peut compter que sur la participation volontaire des membres. Une fois un texte ratifié, les pays signataires sont tenus de l'inclure à leur système législatif.

[30] Office fédéral de la sécurité alimentaire et des affaires vétérinaires (OSAV), « Statistiques sur les expériences sur animaux ».
[31] GUILLEN et al., *Regulations and Recommendations for Global Collaborative Research - Chapter 5 - The European Framework on Research Animal Welfare Regulations and Guidelines*.

La STE 123 est constituée de 38 articles réparties 12 titres, ainsi que 2 annexes[32] :

- Titre I (articles 1-4) : principes généraux.
- Titre II (article 5) : soins généraux et hébergement (référence à l'annexe A).
- Titre III (articles 6-12) : 3R, conduite des procédures, méthodes alternatives, minimisation de la douleur et des contraintes, réutilisation des animaux, mise à mort…
- Titre IV (article 13) : autorisations.
- Titre V (articles 14-17) : mesures administratives.
- Titre VI (articles 18-24) : exigences vis-à-vis des structures d'hébergement, le personnel…
- Titre VII (articles 25-26) : formation du personnel.
- Titre VIII (articles 27-28) : informations statistiques.
- Titre IX-XII (articles 29-32) : aspects juridiques.

L'annexe A constitue un texte essentiel en raison de ses recommandations. En effet, elle répertorie, pour les différentes espèces utilisées, les conditions d'hébergement minimales (taille des cages, conditions climatiques, soins, enrichissement…). Il est à noter que ces recommandations ont été intégrées à la législation de l'Union Européenne après la révision de l'annexe de 2006 sur la base de travaux de comités d'experts.

L'ETS était ainsi le premier document visant à établir un cadre commun à l'échelle européenne concernant la protection, les soins et l'utilisation des animaux de laboratoire. Cette homogénéisation n'a cependant pas été pleinement satisfaisante puisque certains pays, comme le Royaume-Uni ou la Suisse ont émis des règles plus strictes que celles proposées.

### 1.2.2. Directive 2010/63/UE.

Cette directive a été émise en 2010 par l'Union Européenne, et ne concerne donc que les 27 États membres (dont la France). Ce texte vise à actualiser le précédent (Directive 86/609/CEE) datant de 1986 en y incluant les principes de la STE 123 et la version actualisée en 2006 de l'annexe A. Avec ce texte, l'Union Européenne impose à ses membres une application littérale des recommandations, sans possibilité de choisir des mesures plus strictes. L'homogénéisation est donc possible avec cette directive.

De plus, elle permet d'intégrer les 3R au domaine juridique. Cette règle, non imposée auparavant, vise à réduire l'expérimentation animale et ajouter un contrôle éthique par les autorités.

[32] Conseil de l'Europe, *Convention européenne sur la protection des animaux vertébrés utilisés à des fins expérimentales ou à d'autres fins scientifiques*.

La directive 2010/63/UE a donc pour objectif d'augmenter de manière significative le bien-être et le respect de l'animal. Elle est constituée de 66 articles réparties 6 chapitres, ainsi que 8 annexes[33] :

- Chapitre I (articles 1-6) : dispositions générales (champ d'application, définitions, 3R, méthodes de mise à mort).
- Chapitre II (articles 7-11) : dispositions relatives à l'utilisation de certaines espèces (primates non humain, espèces en voie de disparition, faune sauvage…).
- Chapitre III (articles 12-19) : conduite des procédures (méthodes, anesthésie/analgésie, degrés de gravité, réutilisation…).
- Chapitre IV (articles 20-45) : exigences envers les utilisateurs et fournisseurs (autorisations, installations, équipements, personnel…), hébergement, soins, formations, inspections, besoins des projets de recherche…
- Chapitre V (articles 46-49) : approches alternatives à l'utilisation d'animaux.
- Chapitre VI (articles 50-66) : dispositions finales (déclaration de l'utilisation d'animaux, autorités…)

Ces dispositions ont donc été transposées dans la législation nationale de chacun des États membres. Des différences minimes peuvent subsister d'un pays à l'autre en raison d'interprétation potentielles de la directive.

### 1.2.3. Considérations spéciales des animaux génétiquement modifiés

Les progrès réalisés en transgénèse ainsi que les connaissances des génomes des animaux de laboratoire contribuent à une demande croissante concernant l'utilisation d'animaux génétiquement modifiés en recherche. Une attention particulière est donc accordée à ces technologies de modification génétique. En effet, la société attend des autorités qu'elles régulent l'utilisation des organismes génétiquement modifiés pour des raisons à la fois écologiques et éthiques

Outre les interactions potentielles avec l'environnement qui restent méconnues, ces modifications sont susceptibles de causer des souffrances non prévues et/ou non contrôlées aux animaux utilisés. La protection du bien-être des animaux concernés est donc naturellement traitée par la STE 123 et la directive 2010/63/UE. Cela inclut les animaux transgéniques, mutants naturels ou induits. Ainsi, une classification de la gravité des procédures a été mise en place et figure dans la directive[34] *(Cf.* ***Annexe VIII de la directive 2010/63/UE*** *en annexes)*. Cette classification est utilisée pour tous les animaux expérimentaux et en particulier pour les animaux génétiquement modifiés.

La création d'une lignée d'animaux génétiquement modifiés est considérée comme une procédure tant qu'elle n'a pas été établie. Il faut donc qu'elle soit suivie jusqu'à s'assurer que les animaux ne sont soumis à aucun phénotype dommageable, c'est-à-dire aucune contrainte d'origine génétique « susceptible de causer une douleur, une souffrance, une angoisse ou des dommages durables équivalents ou supérieurs à ceux causés par l'introduction d'une aiguille conformément aux bonnes pratiques vétérinaires »[35]. Si aucune contrainte de ce type n'est détectée, la gravité peut être classée comme étant légère ; sinon, il convient de déterminer le degré de gravité auquel tous les représentants de cette lignée seront soumis pour de futures procédures.

[33] Parlement européen et Conseil de l'Union Européenne, *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*.
[34] Ibid.
[35] Ibid.

Une nouvelle lignée d'animaux génétiquement modifiés est considérée comme établie lorsque la transmission de la modification génétique est stable. Selon la directive 2010/63/UE, il faudra :

- Une étude menée sur 2 générations de reproduction au minimum ;
- Une évaluation sur 7 mâles et 7 femelles ;
- Des contrôles réalisés à des moments clés de la vie de l'animal : peu après la naissance, autour du sevrage, après la maturité sexuelle
- Une comparaison avec des animaux similaires non génétiquement modifiés ;

Les animaux génétiquement modifiés doivent être déclarés lors de la création d'une nouvelle lignée. Lorsque celle-ci est établie, la déclaration demeure obligatoire s'ils présentent un phénotype dommageable, ou s'ils sont utilisés dans le cadre de procédures, c'est-à-dire « susceptibles de causer une douleur, une souffrance, une angoisse ou des dommages durables équivalents ou supérieurs à ceux causés par l'introduction d'une aiguille conformément aux bonnes pratiques vétérinaires »[36].

[36] Ibid.

## 2. EXPÉRIMENTATION ANIMALE EN SUISSE

### 2.1. Situation actuelle

A l'heure actuelle, plus de 600 000 animaux expérimentaux sont utilisés chaque année en Suisse. Entre 50 et 60 % de ces animaux sont utilisés dans les Universités, les Écoles Polytechniques Fédérales et les hôpitaux ; et entre 25 et 35 % dans l'industrie[37]. Les principaux centres hébergeant des animaux de laboratoire se situent à Bâle, Zurich, Berne, Lausanne et Genève *(Figure 3)*.

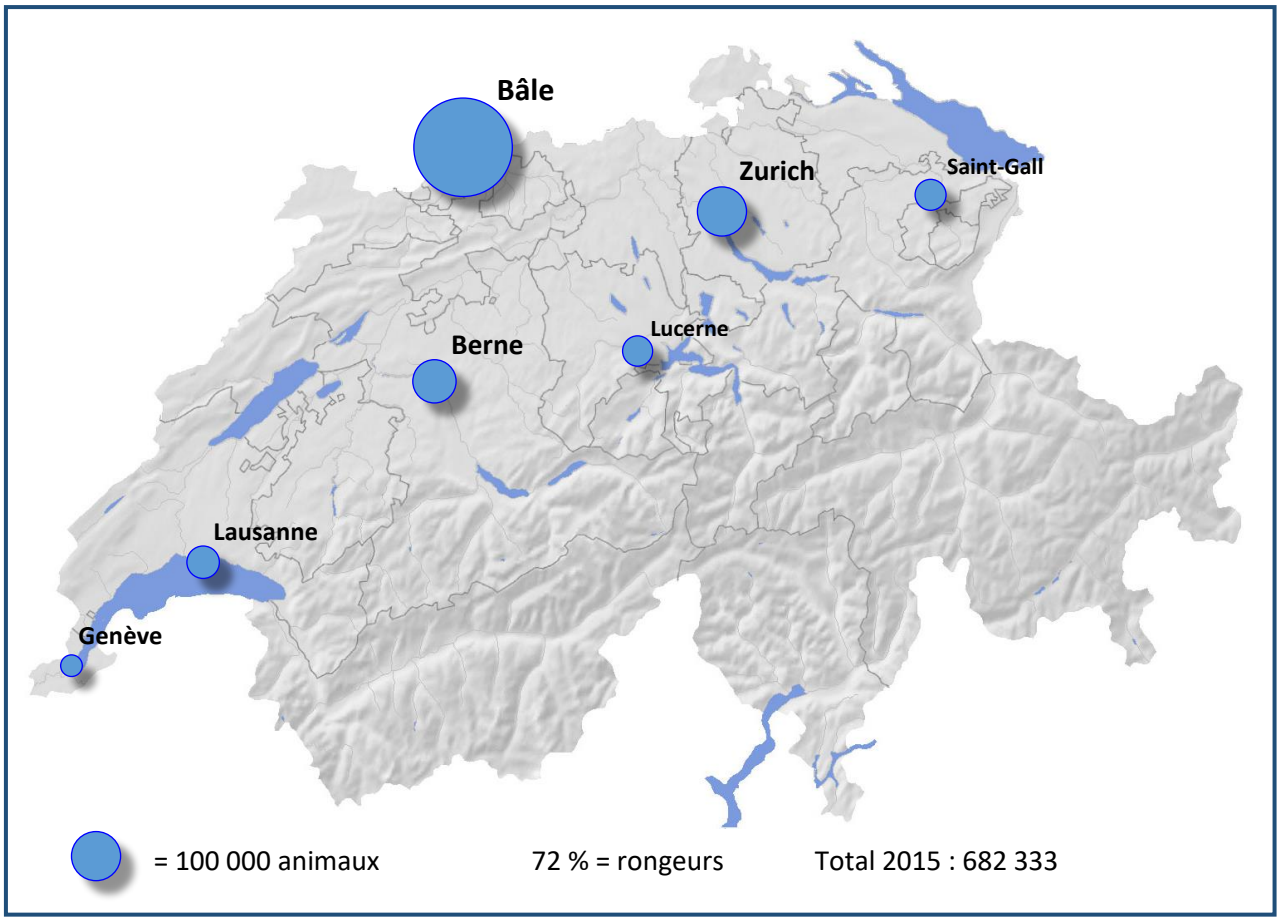


***Figure 3 :*** *Principaux sites hébergeant des animaux d'expérimentation à l'échelle nationale*[38]

Si le nombre d'animaux expérimentaux a drastiquement diminué ces trente dernières années, puisqu'il était de près de 2 000 000 en 1983 *(Figure 4)*, la tendance semble être de nouveau à la hausse avec une augmentation de 2.8 % de 2013 à 2014 et de 12.5 % de 2014 à 2015 *(Cf. Tableau 12 en annexes)*. Cette hausse peut s'expliquer par le développement d'outils de modification génétique puissants utilisés notamment en recherche fondamentale. Le nombre d'animaux utilisés dans ce domaine a d'ailleurs plus de doublé depuis 1997 et représente environ 60 % des rongeurs utilisés actuellement[39].

[37] Office fédéral de la sécurité alimentaire et des affaires vétérinaires (OSAV), « Statistiques sur les expériences sur animaux ».
[38] DESBAILLETS HAKIMI, « Cours de législation pour gardiens d'animaux ».
[39] Office fédéral de la sécurité alimentaire et des affaires vétérinaires (OSAV), « Statistiques sur les expériences sur animaux ».

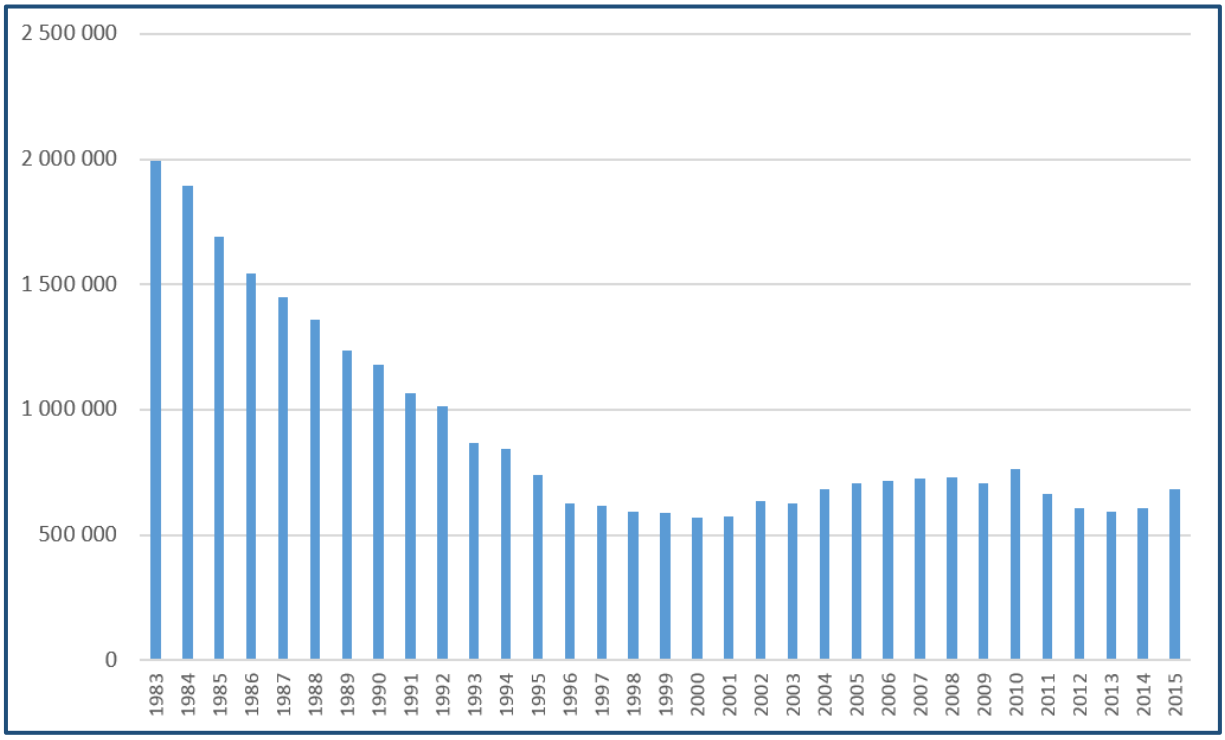


***Figure 4 :*** *Évolution du nombre d'animaux expérimentaux utilisés en Suisse de 1983 à 2015*[40]

Étant donné l'importance de l'expérimentation en Suisse, il a été décidé d'adopter depuis longtemps une logique de protection animale assez poussée à travers sa législation et ses comités d'éthique. De plus, du fait d'une évolution du type d'animaux utilisés, notamment d'animaux génétiquement modifiés dont le nombre a triplé ces quinze dernières années[41], les enjeux doivent être constamment ajustés par la législation.

## 2.2. Expérimentation animale et réglementation

Même si la Suisse a signé la convention européenne sur la protection des animaux vertébrés utilisés à des fins expérimentales ou à d'autres fins scientifiques en 1989, avec une entrée en vigueur en 1994[42], celle-ci a été l'objet de révisions par la suite (1991 puis 1997, 2001 et 2005). La Suisse s'est donc doté de textes juridiques particulièrement détaillés en matière d'expérimentation animale, respectant l'esprit de la STE 123 tout en poussant les critères plus loin, notamment en ce qui concerne l'étendue des espèces protégées. En effet, la STE 123, et surtout la directive 2010/63/UE, protège davantage les espèces sensibles selon l'opinion publique (primates, chiens, chats notamment)[43].

[40] Office fédéral de la sécurité alimentaire et des affaires vétérinaires (OSAV), « Statistiques sur l'expérimentation animale en Suisse ».
[41] Hans, « L'expérimentation animale en Suisse ».
[42] Conseil de l'Europe, « Liste complète des signatures et ratifications du traité 123 ».
[43] BAKHTINA, « L'expérimentation sur les primates en droit suisse ».

L'arsenal juridique de la Suisse encadrant l'expérimentation animale est constitué de 3 principales ordonnances :

- L'Ordonnance sur la Protection des Animaux (OPAn) ;
- L'ordonnance de l'OSAV concernant la détention des animaux d'expérience, la production d'animaux génétiquement modifiés et les méthodes utilisées dans l'expérimentation animale (ou ordonnance sur l'expérimentation animale)[44] ;
- L'ordonnance du DFI sur les formations à la détention d'animaux et à la manière de les traiter (ou ordonnance sur les formations en matière de protection des animaux, OFPAn)[45].

### 2.2.1. OPAn[46]

L'OPAn est un long document de 180 pages dont le but est d'encadrer la manière de traiter, la détention ainsi que l'utilisation des animaux familiers, de rente, sauvage et d'expérience. Cette réglementation concerne ainsi l'ensemble des vertébrés, des céphalopodes et des décapodes marcheurs.

L'ordonnance est composée de 226 articles, répartis dans 11 chapitres différents, et 4 grandes annexes :

- Chapitre 1 (articles 1-2) : dispositions générales (objet, définitions)
- **Chapitre 2 (articles 3-30) : détention et traitement des animaux** (principes, alimentation, soins, hébergement, environnement), dérogations, pratiques interdites, élevage.
- Chapitre 3 (articles 31-84) : spécifique aux animaux domestiques
- Chapitre 4 (articles 85-100) : spécifique aux animaux sauvages
- Chapitre 5 (articles 101-111) : prise en charge, soins, élevage et détention des animaux (autorisations, conditions pour les personnes s'occupant d'animaux) ; commercialisation
- **Chapitre 6 (articles 111-149) : expérimentation animale, animaux génétiquement modifiés et mutants présentant un phénotype invalidant**
- Chapitre 7 (articles 150-176) : transport d'animaux
- Chapitre 8 (articles 177-188) : mise à mort et abattage
- Chapitre 9 (articles 189-206) : formations, infractions
- Chapitre 10 (articles 207-219) : mesures administratives et exécution (rôle de l'OSAV, des cantons, contrôles…)
- Chapitre 11 (articles 220-226) : dispositions finales
- Annexes :
    - Exigences de détention des espèces domestiques
    - Exigences de détention des espèces sauvages
    - **Exigences de détention des animaux d'expérience**
    - Espace minimal pour le transport des animaux de rente

[44] Office fédéral de la sécurité alimentaire et des affaires vétérinaires, *Ordonnance de l'OSAV concernant la détention des animaux d'expérience, la production d'animaux génétiquement modifiés et les méthodes utilisées dans l'expérimentation animale*.
[45] Département fédéral de l'intérieur (DFI), *Ordonnance du DFI sur les formations à la détention d'animaux et à la manière de les traiter*.
[46] Conseil fédéral suisse, *Ordonnance sur la protection des animaux (OPAn)*.

L'OPAn est donc un document de référence en matière de protection animale et couvre tous les champs d'utilisations possibles. Comme nous le verrons plus tard, d'autres textes complètent et précisent les règles de cette ordonnance.

Ainsi, la présente ordonnance impose de traiter les animaux de manière à ce que leur fonctions corporelles et comportement ne soient pas perturbés. Ils doivent être nourris, abreuvés et logés convenablement en accord avec leurs conditions biologiques. De plus, le détenteur doit s'assurer que leur état de santé et de bien-être est satisfaisant ; leur dignité doit être respectée. Il est par ailleurs interdit de maltraiter les animaux, de les négliger ou de les surmener inutilement ***(articles 3 à 13)***. Par ailleurs, cette ordonnance encadre la formation des différents professionnels amenés à manipuler des animaux (agriculture, garde d'animaux, pêche…) et les structures d'hébergement d'animaux sont tenues à la formation de leur personnel.

En matière d'expérimentation animale plus précisément, les locaux utilisés doivent être adaptés à l'espèce utilisée (éclairage, conditions climatiques, taille, nombre de congénères…). Les animaux doivent également être accoutumés à leurs conditions d'hébergement avant le début de l'expérience. L'état de santé doit être surveillé, et des mesures de réduction des contraintes doivent être mises en place si besoin *(Cf. articles du* ***Chapitre 6 de l'OPAn- Expérimentation animale, animaux génétiquement modifiés et mutants présentant un phénotype*** invalidant*, en annexes)*.

### 2.2.2. Ordonnance sur l'expérimentation animale[47]

Cette ordonnance est issue de l'office fédéral des affaires vétérinaires suisse. Elle complète le cadre fixé par l'OPAn et régit :

- La détention des animaux d'expérience ;
- La production, l'élevage et la détention d'animaux d'expérience génétiquement modifiés et de mutants présentant un phénotype invalidant ;
- La caractérisation et la documentation de la contrainte, et la procédure de déclaration ;
- La détermination du degré de gravité des contraintes ;
- Les expériences sur animaux effectuées dans plusieurs cantons ;
- Les demandes et les déclarations

[47] Office fédéral de la sécurité alimentaire et des affaires vétérinaires, *Ordonnance de l'OSAV concernant la détention des animaux d'expérience, la production d'animaux génétiquement modifiés et les méthodes utilisées dans l'expérimentation animale*.

Elle est composée de 32 articles répartis dans 8 sections, ainsi que 4 annexes :

- Section 1 (article 1) : objet de l'ordonnance
- **Section 2 (articles 2-8) : détention des animaux d'expérience**
- Section 3 (articles 9-11) : production, élevage et détention d'animaux d'expérience génétiquement modifiés et de mutants présentant un phénotype invalidant
- **Section 4 (articles 12-23) : Caractérisation et documentation de la contrainte, et procédure de déclaration**
- **Section 5 (articles 24-26) : détermination du degré de gravité de la contrainte**
- Section 6 (article 26) : expérimentation animale réalisée dans plusieurs cantons
- Section 7 (articles 28-31) : demandes et déclarations relatives aux animaleries et aux expériences sur animaux
- Section 8 (article 32) : entrée en vigueur
    I. Méthodes reconnues pour la production d'animaux génétiquement modifiés
    II. Informations scientifiques de base
    III. Résumé de la caractérisation de la contrainte
    **IV. Caractérisation de la contrainte chez les lignées de petits rongeurs génétiquement modifiées et les mutants présentant un phénotype invalidant** *(Cf. Tableau 13 en annexes)***.**

Les précisions apportées par cette ordonnance sont essentielles à la gestion d'une animalerie de laboratoire et constitueront la base de réflexion dans le cadre de la détection, la surveillance et la caractérisation des contraintes, en particulier liées à des phénotypes invalidants *(Cf. articles de l'**Ordonnance sur l'expérimentation animale** en annexe)*.

Les animaux d'expérience doivent ainsi être surveillés au moins 3 fois par semaine. La détection d'une contrainte doit être signalée sur la cage et pourra nécessiter l'augmentation de la fréquence des contrôles. Toute information relative à la contrainte devra alors être consignée et accessible au personnel à tout moment.

Il existe un certain nombre de contraintes réglementaires, fixées par l'annexe 4 de l'ordonnance sur l'expérimentation animale *(Cf. Tableau 13 en annexes)*. Les dates et heures des contrôles devront être notifiées et des mesures de réduction ou de suppression de la contrainte devront être mise en place sans délai. À chaque contrainte sera associée un degré de gravité comparable à ceux fixés par la directive 2010/63/UE. Les différences concernent surtout :

- L'existence d'un degré 0 et d'un degré 1 en Suisse, alors que la réglementation européenne regroupe les deux sous la classe de gravité légère ;
- L'existence d'une classe de gravité « sans réanimation » au sein de l'Union Européenne, qui correspond aux procédures entièrement réalisées sous anesthésie générale et terminées par la mise à mort de l'animal

***Tableau 2 :*** *Comparatif des degrés de gravité établis par les réglementations européenne et suisse*

| Union Européenne | Suisse |
|---|---|
| Légère | Degré 0 |
| | Degré 1 |
| Modérée | Degré 2 |
| Sévère | Degré 3 |
| Sans réanimation | |

### 2.2.3. Application au niveau cantonal (cas particulier du Canton de Vaud)

Les textes juridiques précédents, émis par l'autorité fédérale, sont ensuite transposées aux différents cantons. Nous nous intéresserons particulièrement au canton de Vaud dans lequel ont lieu les activités de l'EPFL.

Le Conseil d'État est le nom donné aux gouvernements exécutifs des cantons de la Suisse Romande. Celui-ci est donc responsable, via son département en charge des affaires vétérinaires (Service de la consommation et des affaires vétérinaires), de la surveillance et de l'application de la législation fédérale à l'échelle cantonale[48]. Un vétérinaire cantonal est ainsi nommé. De plus, une commission cantonale pour les expériences sur animaux est créée.

Cette commission est composée de neuf membres :

- Deux membres (président et vice-président) sont proposés par le chef du département en charge des affaires vétérinaires ;
- Deux membres représentant l'Université de Lausanne ;
- Un membre représentant l'École polytechnique fédérale de Lausanne ;
- Un membre représentant la Société vaudoise des vétérinaires ;
- Deux membres représentant les sociétés protectrices des animaux ;
- Un membre représentant les sociétés de la protection de la nature.

La commission a pour but d'évaluer les demandes de pratiquer des expériences sur des animaux et d'en aviser le vétérinaire cantonal, en vue d'une autorisation. Par ailleurs, elle peut réaliser des inspections concernant les expériences en cours en ayant préalablement prévenu, ou non, de son intervention.

Le fonctionnement interne de la commission est fixé par le vétérinaire cantonal dans une directive[49]. Ainsi, dans le canton de Vaud, des sous-commissions de 2 membres peuvent être constituées pour une meilleure répartition du travail. Ces sous-commissions, associées au président de la commission, peuvent gérer les demandes d'autorisation et les notifications concernant des degrés de gravité inférieurs à 3. En revanche, les expériences classées en degré de gravité 3 sont impérativement présentées à l'ensemble de la commission.

[48] Grand Conseil du Canton de Vaud, *Loi d'application de la législation fédérale sur la protection des animaux (LVLPA)*.
[49] Service de la consommation et des affaires vétérinaires du Canton de Vaud, *Directives sur le fonctionnement de la Commission élaborées sur la base de l'article 13 de la loi d'application de la législation fédérale du 1er septembre 2015 sur la protection des animaux*.

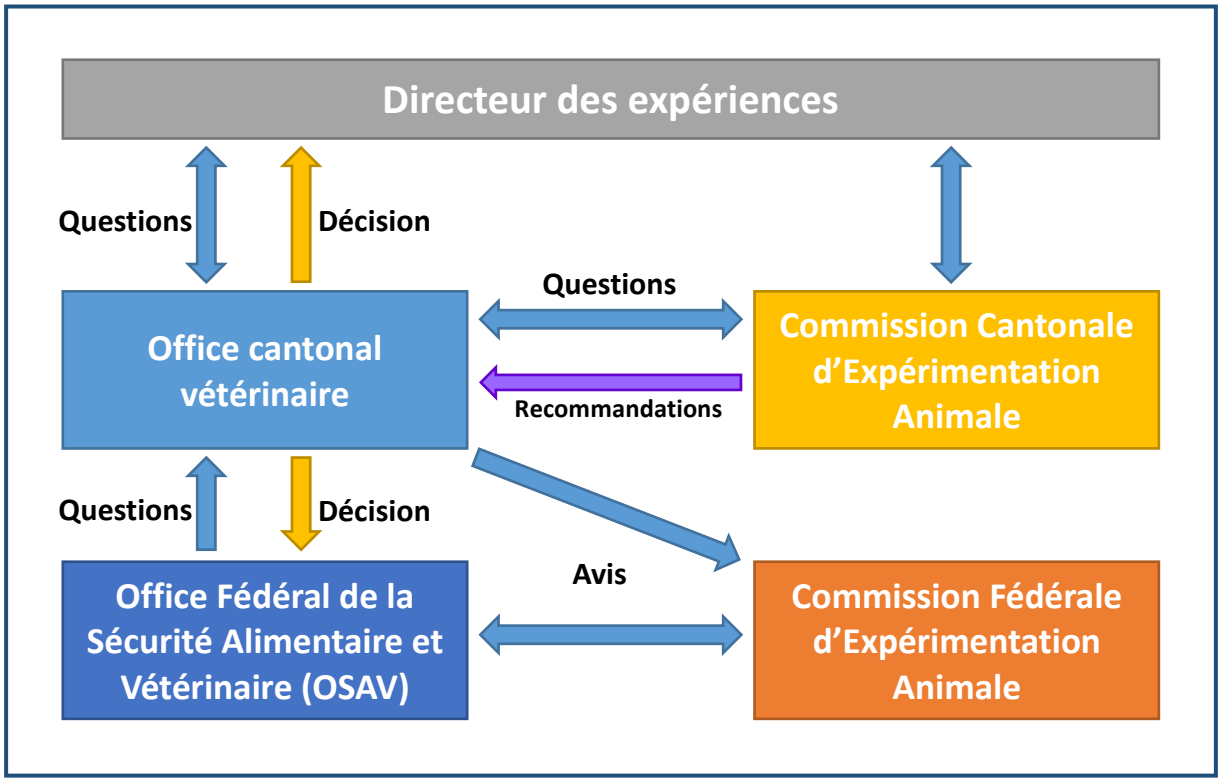


***Figure 5 :*** *Processus d'autorisation d'expérimentation*[50]

## 2.3. Cas particulier des animaux génétiquement modifiés

L'OPAn impose de surveiller les animaux génétiquement modifiés afin de garantir leur bien-être et détecter tout phénotype invalidant.

> ***Art. 124 - Caractérisation de la contrainte***[51]
> ***1.*** *Le bien-être des animaux génétiquement modifiés et celui des mutants présentant un phénotype invalidant doivent être surveillés régulièrement ; la fréquence de la surveillance doit être telle que la contrainte au sens de l'art. 3 LPA ainsi que les troubles de l'état général soient identifiés à temps et puissent être évalués (caractérisation de la contrainte). La caractérisation de la contrainte doit être documentée et fait partie intégrante du registre des animaux.*
> ***2.*** *L'OSAV fixe les exigences à remplir pour la caractérisation de la contrainte des animaux génétiquement modifiés et des mutants présentant un phénotype invalidant. La caractérisation de la contrainte doit être différenciée selon l'espèce animale, l'âge des animaux, les connaissances disponibles sur la lignée ou la souche et l'ampleur de l'utilisation prévue.*

Lorsqu'une contrainte est détectée sur une lignée génétiquement modifiée, et que son origine est potentiellement génétique, la contrainte doit être caractérisée par des contrôles réguliers (à chaque change de cage). Par ailleurs, les nouveau-nés de ces lignées doivent être contrôlés dans les cinq jours suivant leur naissance. Une suspicion de phénotype invalidant doit être vérifiée sur 3 générations. Si suite à ces contrôles, réalisés sur un minimum de 100 animaux, aucune contrainte n'a été détectée, la lignée est réputée comme ne présentant aucun phénotype invalidant.

[50] DESBAILLETS HAKIMI, « Cours de législation pour gardiens d'animaux ».
[51] Conseil fédéral suisse, *Ordonnance sur la protection des animaux (OPAn)*.

> ***Art. 14 - Caractérisation de la contrainte chez les lignées nouvelles ou non suffisamment caractérisées de petits rongeurs***[52]
> ***1.*** *Les lignées nouvelles ou non suffisamment caractérisées de petits rongeurs génétiquement modifiés seront contrôlées lors du changement de cage pour déceler d'éventuels signes particuliers au sens de l'annexe 4, et elles feront l'objet d'un simple contrôle visuel au moins une fois entre chaque changement de cage.*
> ***2.*** *Les nouveau-nés seront contrôlés dans les cinq jours suivant leur naissance pour déceler d'éventuels signes particuliers au sens de l'annexe 4. Ils seront ensuite contrôlés au rythme fixé à l'al. 1 jusqu'au sevrage.*
> ***3.*** *Tous les animaux visés aux al. 1 et 2 seront contrôlés pendant les trois premières générations.*
> ***4.*** *Une lignée est réputée ne pas présenter un phénotype invalidant si au total 100 animaux obtenus au cours de trois générations au moins ont été contrôlés et qu'aucune contrainte n'a été décelée lors de ces contrôles.*

***Tableau 3 :*** *Comparaison des mesures de contrôles des contraintes entre l'Union Européenne et la Suisse*

| | **Union Européenne** | **Suisse** |
|---|---|---|
| **Fréquence des contrôles** | ▪ Premier contrôle peu après la naissance ;<br>▪ Autour du sevrage ;<br>▪ Après la maturité sexuelle ;<br>▪ A des points de temps supplémentaires examinés par une étude prospective de l'impact potentiel de l'altération du gène. | ▪ Premier contrôle dans les 5 jours suivant la naissance ;<br>▪ A chaque contrôle de cage (1 fois par semaine à l'EPFL) ;<br>▪ Simple contrôle visuel entre 2 changements de cage. |
| **Nombre d'animaux** | ▪ Sur 14 animaux au minimum ;<br>▪ 50 % de femelles et 50 % de mâles. | ▪ Sur 100 animaux au minimum ;<br>▪ Aucune précision concernant le sexe. |
| **Nombre de générations** | Sur 2 générations au minimum. | Sur 3 générations au minimum. |

À la suite de la détection d'une contrainte, des mesures de réduction de celle-ci doivent immédiatement être mises en place. Cela peut passer par :

- L'utilisation de substances médicamenteuses ;
- Une utilisation d'un nombre d'animaux réduit au minimum ;
- Ou encore une mise à mort.

> ***Art. 125 - Mesures diminuant la contrainte***[53]
> ***1.*** *Il faut réduire autant que possible les atteintes au bien-être des mutants qui présentent un phénotype invalidant en adaptant les conditions de détention et les soins et en prenant d'autres mesures adéquates comme la limitation de la durée de vie.*
> ***2.*** *Pour les lignées ou souches présentant un phénotype invalidant, le nombre d'animaux élevés ou détenus doit se justifier par le nombre d'animaux requis pour exécuter les expériences autorisées. Les animaux surnuméraires doivent être mis à mort s'il est porté atteinte à leur bien-être.*

Les contraintes potentiellement liées à un phénotype invalidant doivent être notifiées aux autorités cantonales. Il faut ainsi transmettre les informations relatives la lignée concernée, la caractérisation de la contrainte, les mesures de réduction et la pertinence de l'utilisation de cette lignée.

[52] Office fédéral de la sécurité alimentaire et des affaires vétérinaires, *Ordonnance de l'OSAV concernant la détention des animaux d'expérience, la production d'animaux génétiquement modifiés et les méthodes utilisées dans l'expérimentation animale*.
[53] Conseil fédéral suisse, *Ordonnance sur la protection des animaux (OPAn)*.

> ***Art. 126 - Obligation de notifier les lignées ou souches présentant un phénotype invalidant***[54]
> ***1.*** *Si la caractérisation de la contrainte révèle qu'une lignée ou une souche produit des mutants présentant un phénotype invalidant, l'autorité cantonale doit en être informée.*
> ***2.*** *La notification doit comporter des informations concernant :*
> ***a.*** *la caractérisation de la lignée ou de la souche ;*
> ***b.*** *la documentation sur la caractérisation de la contrainte ;*
> ***c.*** *les mesures possibles pour réduire la contrainte ;*
> ***d.*** *l'utilité de la lignée ou de la souche pour la recherche, le diagnostic ou le traitement chez l'homme ou l'animal.*

Ces notifications doivent être réalisées par l'intermédiaire d'un formulaire spécifique *(Cf.* ***Formulaire M*** *en annexes)*.

La notification provisoire est à réaliser dès qu'il y a suspicion de phénotype invalidant. Elle doit contenir la description précise des contraintes observées, l'espèce et la lignée concernée ainsi que son génotype et fond génétique, la modification génétique réalisée et les informations concernant le producteur, un plan de surveillance envisagé et les mesures de réduction de la contrainte.

> ***Art. 17 - Notification provisoire de contraintes chez des lignées de petits rongeurs***[55]
> ***1.*** *Si plusieurs petits rongeurs issus de lignées nouvelles ou non suffisamment caractérisées ou de lignées génétiquement modifiées susceptibles d'avoir un phénotype invalidant présentent des contraintes similaires, le responsable de l'animalerie notifie les contraintes observées à l'autorité cantonale d'autorisation (notification provisoire).*
> ***2.*** *La notification provisoire doit contenir les informations suivantes :*
> ***a.*** *dans le résumé de la caractérisation de la contrainte, une description précise des contraintes observées ;*
> ***b.*** *les données scientifiques de base visées à l'annexe 2 ;*
> ***c.*** *les points supplémentaires qu'il est prévu d'examiner ;*
> ***d.*** *les mesures prévues ou prises pour réduire la contrainte et leurs effets probables.*

La notification définitive est à réaliser au plus tard après contrôle de 100 animaux sur trois générations. Elle doit contenir les mêmes informations que précédemment, ainsi que le degré de contrainte, la pesée des intérêts quant à l'utilisation de cette lignée et le nombre d'animaux prévus pour la reproduction et les expériences.

> ***Art. 18 - Notification définitive des contraintes observées chez des lignées de rongeurs de petite taille***[56]
> ***1.*** *La notification définitive de contraintes observées chez des lignées de petits rongeurs est à effectuer au plus tard après que 100 animaux ont été contrôlés conformément à l'art. 14.*
> ***2.*** *La notification définitive doit contenir les données suivantes :*
> ***a.*** *les informations scientifiques de base visées à l'annexe 2 ;*
> ***b.*** *un plan d'observation des animaux et les résultats de la caractérisation de la contrainte, y compris la catégorie de contrainte ;*
> ***c.*** *les mesures à prendre pour réduire la contrainte, et leurs effets ;*
> ***d.*** *la pesée des intérêts entre les contraintes constatées sur les animaux et l'utilité potentielle de la lignée pour la recherche, le diagnostic ou le traitement chez l'homme ou l'animal, y compris la probabilité que cette utilité devienne effective ;*
> ***e.*** *la taille de la colonie destinée à l'élevage ainsi que le nombre d'animaux qu'il est prévu d'utiliser dans des expériences.*

Le formulaire M est associé à une fiche technique *(Cf.* ***Fiche technique AGM*** *en annexes)* destinée à décrire précisément la lignée et la contrainte observée.

---

[54] Ibid.
[55] Office fédéral de la sécurité alimentaire et des affaires vétérinaires, *Ordonnance de l'OSAV concernant la détention des animaux d'expérience, la production d'animaux génétiquement modifiés et les méthodes utilisées dans l'expérimentation animale*.
[56] Ibid.

> ***Art. 23** - Fiche de données sur les lignées génétiquement modifiées et des mutants présentant un phénotype invalidant*[57]
> ***1.** Les principales informations relatives aux lignées génétiquement modifiées et aux mutants présentant un phénotype invalidant sont à inscrire sur un document récapitulatif (fiche de données). Cette fiche de données doit comporter les informations suivantes :*
> ***a.** les informations scientifiques de base visées à l'annexe 2 ;*
> ***b.** un résumé de la caractérisation de la contrainte au sens de l'annexe 3 ;*
> ***c.** le cas échéant, la décision relative aux lignées présentant un phénotype invalidant*
> ***2.** La fiche de données sera remise à l'autorité cantonale au plus tard lors du dépôt de la demande d'autorisation de pratiquer des expériences sur animaux avec la lignée ou les mutants en question, ou lors de la notification de la lignée ou des mutants à l'autorité cantonale.*
> ***3.** La fiche de données tient lieu de communication au sens de l'art. 13 de l'ordonnance du 25 août 1999 sur l'utilisation des organismes en milieu confiné3 en cas de transfert d'animaux génétiquement modifiés d'un milieu confiné dans un autre. Au moment de la cession d'une lignée nouvelle qui n'a pas encore été suffisamment caractérisée ou d'une lignée susceptible de présenter un phénotype invalidant, il sera également remis à l'acquéreur toutes les données recueillies à cette date.*

À la suite de ces déclarations (Fiche M et fiche technique AGM), l'autorité cantonale juge, sur la base d'une évaluation de la commission cantonale pour les expériences sur animaux, de la pertinence de l'utilisation de ces animaux qui pourraient subir, en plus de leur phénotype invalidant, des contraintes d'origine expérimentale. Une autorisation d'utilisation de la lignée est ensuite délivrée ou non et peut être associée à des conditions supplémentaires.

> ***Art. 127** - Décision quant à l'admissibilité des lignées ou souches présentant un phénotype invalidant*[58]
> ***1.** Lors de l'évaluation de la contrainte admissible que peut subir une lignée ou une souche présentant un phénotype invalidant, une pesée des intérêts doit être réalisée entre la gravité de la contrainte et l'utilité de l'expérience en application de l'art. 137. Lors de cette pesée des intérêts, il faut tenir compte notamment de l'éventualité que l'expérience cause une atteinte supplémentaire au bien-être des animaux en plus de l'atteinte à leur bien-être due à l'intervention génétique.*
> ***2.** L'autorité transmet la notification à la commission cantonale des expériences sur animaux et décide, sur la base du préavis de cette commission, si la lignée ou la souche est admissible et, dans l'affirmative, dans quelle mesure elle peut être maintenue.*

[57] Ibid.
[58] Conseil fédéral suisse, *Ordonnance sur la protection des animaux (OPAn)*.

# Partie II – Cas particulier des animaux transgéniques

L'avènement de la recherche, notamment de la recherche appliquée au vivant et particulièrement via l'expérimentation animale, a permis de nombreuses avancées scientifiques. Cependant, en même temps que ces progrès, les contraintes subies par les animaux ont pu prendre une toute autre dimension. On peut citer par exemple l'administration de produits pouvant avoir des effets délétères sur les animaux.

Les technologies liées à la génétique et la possibilité d'introduire, de supprimer ou de modifier des gènes fonctionnels chez les animaux ont révolutionné l'approche scientifique, mais également éthique, des questions biomédicales et biologiques complexes. Les recherches dans le domaine de la génétique ou de la biologie moléculaire reposent sur une base universelle du vivant sur Terre : le support de l'information génétique. La structure et le codage de l'ADN étant communs à tous les êtres vivants connus, c'est tout naturellement que l'Homme s'est intéressé à l'étude de la génétique. L'élevage des animaux domestiques a intégré ces considérations génétiques d'abord par une approche empirique (création de races par sélection des reproducteurs présentant les caractéristiques souhaitées, surveillance de la généalogie) puis en utilisant des outils d'analyse génétique (analyse de marqueurs génétiques associés à des maladies ou à des performances, calculs de consanguinité...)

Les premiers travaux de transgénèse ont débuté il y a plus de 40 ans. S'il est possible d'utiliser les techniques de transgénèse aux végétaux ou aux bactéries, c'est son application aux animaux de laboratoire qui nous intéressera ici. Les animaux transgéniques sont caractérisés par la présence d'une séquence d'ADN étranger introduit de façon délibérée et stable dans leur lignée germinale[59]. La transgénèse est la discipline conduisant à la modification d'un organisme, à l'aide de différentes méthodes, en y introduisant un ou plusieurs fragments d'ADN pouvant être transmis à sa descendance. Différentes techniques d'introduction de l'information génétique existent. Certaines, comme la projection de microbilles de tungstène ou d'or, sont propres aux végétaux[60]. D'autres, dont nous développerons les principales ici, sont utilisées sur les animaux. Les principales applications de la modification génétique d'animaux peuvent être résumées comme dans le *Tableau 4*.

Si la manipulation de l'ADN est un outil puissant dans le cadre de l'étude du vivant ou du développement de traitements pour l'Homme, elle n'en demeure pas moins sans conséquence. Selon les modifications réalisées, la santé ou les conditions de vie de l'animal peuvent en être plus ou moins altérées. De manière plus insidieuse, la manipulation du génome peut entraîner une instrumentalisation d'êtres sensibles en les modifiant profondément. Dès lors, il est légitime de se demander si le simple fait savoir faire quelque chose suffit à justifier de le faire.

[59] RÜLICKE et al., « FELASA Guidelines for the Production and Nomenclature of Transgenic Rodents ».
[60] GRAIN, « Cours de génétique ».

*Tableau 4 : Différentes techniques de création d'animaux génétiquement modifiés*

| Objectif | Type | Principe | Avantages | Inconvénients |
|---|---|---|---|---|
| **Modification d'un individu** | **Thérapie génique** | Administration chez un animal d'un complexe génique qui s'insère plus ou moins précisément, selon le système d'administration (ADN libre, vecteur viral...) | ▪ Possibilité de "réparation" d'une séquence d'ADN pathologique<br>▪ Ciblage d'un individu | ▪ Ciblage d'organes/tissus/cellules spécifiques difficile<br>▪ Porte ouverte à l'eugénisme |
| **Modification d'une lignée** | **Mutation spontanée** | Exposition d'un animal à un agent chimique ou physique provoquant une modification de l'information génétique par mutation | ▪ Facile à réaliser<br>▪ Ciblage facile des cellules germinales | ▪ Peu de contrôle sur la modification<br>▪ Effets secondaires dus à l'agent utilisé<br>▪ Phénotypes invalidants fréquents |
| | **Transgénèse « classique »** | Administration chez un animal, au stade du gamète ou de l'ovocyte, d'un complexe génique qui s'insère aléatoirement | ▪ Simple à mettre en œuvre<br>▪ Lignée établie rapidement | ▪ Risque d'invalidation de certains gènes<br>▪ Risque de non expression du transgène<br>▪ Seule l'addition est possible |
| | **Recombinaison homologue** | Utilisation du système de recombinaison homologue pour insérer un complexe génique entre des sites homologues au stade blastocyste (après implantation des cellules embryonnaires modifiées) | ▪ Pouvoir de modification important (addition, délétion, substitution)<br>▪ Contrôle possible du site de modification | ▪ Coût élevé<br>▪ Technicité<br>▪ Cellules germinales difficilement ciblées (selon chimérisme de l'embryon produit) |
| | **Système CRISPR-Cas9** | Utilisation d'une enzyme *cas* pour invalider ou insérer un complexe génique au niveau d'une séquence cible précise au stade gamète, ovocyte, embryon ou adulte : technique innovante en développement rapide | ▪ Ciblage avec une précision inégalée<br>▪ Modification facilement "programmable"<br>▪ Coût bas | ▪ Puissance de modification du génome pouvant être utilisée à mauvais escient |

# 1. L'UTILISATION DE LA TRANSGÉNÈSE

## 1.1. L'étude des gènes[61]

Les traitements développés actuellement ont largement tiré parti des études réalisées sur les animaux. Il en est de même pour les progrès récents en génie génétique.

Dans le cadre de l'étude de maladies humaines, le modèle animal a pour but d'élaborer des hypothèses en termes de physiopathologie et/ou de valider les organes, tissus, cellules ou molécules impliquées. En effet, les modèles basés sur des cultures cellulaires ou des tissus ou organes seuls ne sont souvent pas suffisants à la compréhension des maladies.

Cependant, la pertinence de l'utilisation de l'animal comme modèle, lors d'études d'affections humaines, dépend de sa capacité à représenter avec précision la maladie étudiée. La souris s'est imposée comme un choix pertinent pour de nombreuses raisons.

- Malgré une disposition des gènes différente, les génomes murin et humain présentent de nombreuses similitudes puisque sur environ 30 000 gènes, seulement environ 1 % est propre à chaque espèce[62].
- Le possible entretien de lignées dont les animaux présentent tous un fond génétique identique est aisé chez la souris et permet d'éliminer des facteurs susceptibles de biaiser les résultats. Des lignées inbred peuvent ainsi être créées par croisements consanguins sur plus de 20 générations, aboutissant à des animaux quasiment identiques sur le plan génétique. Il en résulte une histocompatibilité permettant d'éviter les risques de rejets lors d'implantations cellulaires.
- Le cycle de reproduction est très court chez cet animal (3 semaines), pour des portées de grande taille laissant espérer une nouvelle génération d'au moins six individus. Ces caractéristiques ont l'avantage de permettre un développement rapide des lignées et des analyses statistiques pertinentes.
- Le caractère reproductible des expériences est possible par le maintien de conditions d'hébergement identiques et hautement standardisées d'un individu à l'autre (climat, statut sanitaire, pression infectieuse…).
- Les techniques de transgénèse sont très bien développées et fonctionnent bien chez la souris, en particulier la recombinaison homologue nécessitant l'utilisation de lignées cellulaires embryonnaires totipotentes (d'où l'essor de la lignée murine 129, du fait d'un très bon rendement[63]).

Les premiers travaux de recherche sur le génome de la souris furent basés sur l'étude de mutation spontanées apparues sur des colonies d'élevage. Une fois identifiées, ces animaux mutants d'intérêt étaient sélectionnés et entretenus par reproduction. Ces mutations spontanées, bien qu'informatives, étaient difficilement utilisables en raison de leur rareté (environ $5x10^{-6}$ par locus[64]) et du fait de la caractérisation phénotypique basées uniquement sur des observations visuelles[65] (changement de comportement, de pelage, symptômes…) qui, à l'époque, ne permettaient la détection que d'une fraction des mutations. L'approche fut ensuite d'induire des mutations en vue de les étudier (radiothérapie, agents chimiques…).

[61] DOYLE et al., « The Construction of Transgenic and Gene Knockout/Knockin Mouse Models of Human Disease ».
[62] WATERSON et al., « Initial Sequencing and Comparative Analysis of the Mouse Genome ».
[63] The Jackson Laboratory, « 129S4/SvJaeJ ».
[64] STANFORD, COHN, et CORDES, « Gene-Trap Mutagenesis ».
[65] BABINET et COHEN-TANNOUDJI, « Vingt ans d'interventions délibérées sur le génome de la souris ».

Devant le potentiel lié à la recherche génétique, des techniques d'études ont été développées. Souvent inspirées de phénomènes observés biologiquement, ces méthodes se sont très vite complexifiées et sont devenues de puissants outils.

L'utilisation d'enzymes de restriction est par exemple une technique très utilisée. Elle permet, grâce à des enzymes d'origine bactérienne, de sectionner l'ADN en des points précis par reconnaissance de séquences spécifiques. La transcriptase inverse, enzyme virale, permet quant à elle d'obtenir à partir d'une molécule d'ARN, la molécule d'ADN correspondante. L'étude des transferts d'ADN entre bactéries via les plasmides a été également l'un des phénomènes sur lequel se sont basées les techniques de modification du génome.

De nombreuses recherches utilisent des espèces ovipares, telles que les Zebrafish ou le Xénope, qui s'avèrent être des modèles présentant de nombreux avantages, par exemple dans le cadre d'études d'embryogénèse et des mécanismes génétiques. Cependant, ce sont les rongeurs, et avant tout la souris, qui sont les plus utilisés car la transposition à l'être humain est plus fiable.

## 1.2. La transgénèse

### 1.2.1. Historique

Avant l'avènement de la transgénèse, les recherches en génétiques utilisaient des souches mutantes pour étudier les effets de la modification de certains gènes. Ces mutations spontanées permettaient l'identification d'un gène grâce à l'analyse d'un phénotype, pathologique ou non, chez l'animal mutant et non observé chez l'animal non mutant, différente de la non mutée. C'est de cette manière qu'ont pu être identifiés, par exemple, les gènes responsables du diabète[66].

Par la suite, créer des organismes génétiquement modifiés a été rendu possible par les progrès du génie génétique. Ces nouvelles techniques développées permettent de modifier le génome de manière contrôlée.

[66] ANDERSEN et TUFIK, *Rodent Model as Tools in Ethical Biomedical Research*.

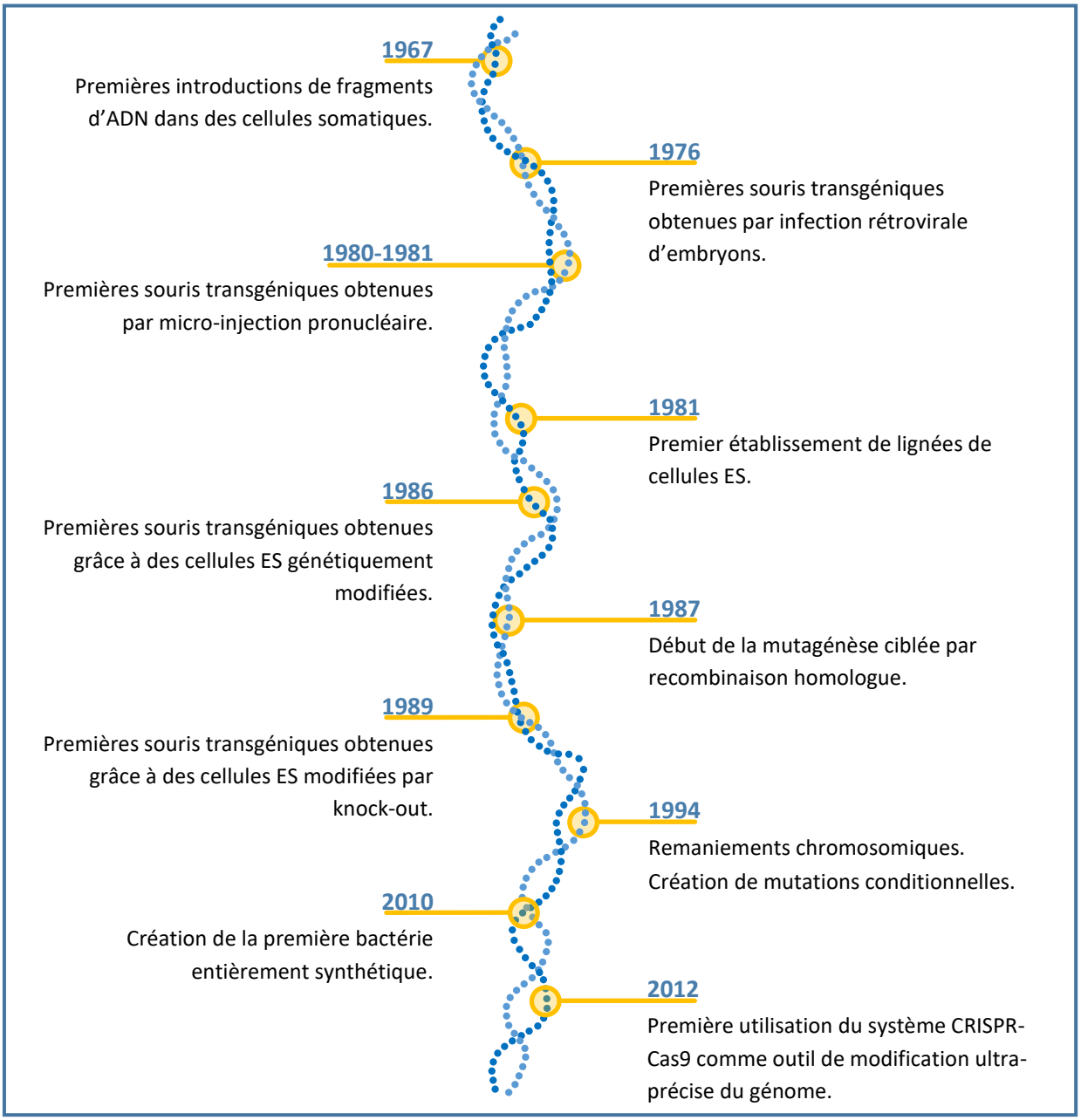


***Figure 6 :*** *Dates clés liées au développement de la transgénèse animale* [67]

Les premières sources d'ADN utilisées lors des prémices de la transgénèse furent des virus altérés, et notamment le virus de la leucémie murine (MoMLV) et le virus simien 40.

Grâce au développement de techniques de production d'ADN en grande quantité (clonage des gènes). Le premier succès de production d'animaux transgéniques fut permis par micro-injection d'une solution riche en ADN dans des pronuclei des zygotes fécondés[68]. Le transgène intégré au génome des souris modifiées n'était alors pas fonctionnel. De nombreuses expériences similaires ont permis par la suite d'améliorer la technique et d'en développer de nouvelles.

[67] Ibid.; DENAIS, « Les animaleries pour animaux transgéniques »; JINEK et al., « A Programmable Dual-RNA-Guided DNA Endonuclease in Adaptive Bacterial Immunity ».
[68] GORDON et RUDDLE, « Integration and stable germ line transmission of genes injected into mouse pronuclei ».

Même si plusieurs espèces animales ont été utilisées, la principale fut et demeure la souris du fait des connaissances approfondies de son génome, de la relative facilité à le modifier et de sa reproduction rapide.

### 1.2.2. Définitions

La première occurrence du terme « transgénique » date de 1981[69] où il était utilisé pour qualifier des souris obtenues après micro-injection de gènes. Il est aujourd'hui utilisé pour désigner un organisme vivant (animal, végétal, bactérie…) dans lequel ont été transférés des gènes étrangers naturels ou synthétisés artificiellement avec pour objectif une transmission à la descendance. Le gène étranger est alors appelé « transgène ». La transgénèse quant à elle désigne l'ensemble des opérations permettant d'obtenir un organisme transgénique[70].

Une précision doit être apportée concernant le terme d'organisme génétiquement modifié (OGM). En effet, du point de vue de la réglementation, le terme de « transgénique » n'est pas utilisé et il lui est préféré celui d'OGM. Ce dernier englobe l'ensemble des êtres vivants dans l'information génétique a été modifiée. Cela inclut donc les organismes transgéniques précédemment évoqués, mais également ceux dont les modifications ont été induites par des agents extérieurs. Il en effet possible de modifier l'ADN par exposition à certains agents physiques ou chimiques (Le N-nitroso-N-éthylurée par exemple est un agent mutagène couramment utilisé dans les protocoles de génie génétique). L'appellation d'OGM est plus souvent utilisée pour parler des végétaux génétiquement modifiés que des animaux.

Les organismes génétiquement modifiés par un moyen autre que la transgénèse ne sont pas ceux nous intéressant dans le présent cas. Cependant, la problématique est similaire puisque ces altérations d'un génome normal peuvent conduire à des anomalies et des contraintes pour l'organisme étudié.

Il existe plusieurs types de modèles d'animaux transgéniques[71] :

- Modèle de surexpression : une ou plusieurs copies d'un gène (d'origine endogène ou issue d'une autre espèce) sont ajoutés au génome ;
- Knock-out et knock-in : un gène endogène est inactivé (knock-out) ou modifié par échange dans le génome (knock-in).

[69] Ibid.
[70] KERNBAUM, *Dictionnaire de médecine - Flammarion - 8e édition*.
[71] ANDERSEN et TUFIK, *Rodent Model as Tools in Ethical Biomedical Research*.

# 2. LA TRANSGÉNÈSE ANIMALE EN RECHERCHE

## 2.1. Intérêts de l'utilisation d'organismes transgéniques et principales applications

Modifier l'information génétique d'un organisme a pour conséquence de modifier la synthèse peptidique en découlant et par conséquent le fonctionnement de l'organisme en général. La transgénèse est donc devenue au cours de ces dernières années un outil essentiel à la recherche fondamentale ou appliquée de par son potentiel biologique quasi-illimité. Certaines découvertes sont déjà utilisées au quotidien, que ce soit en santé humaine ou dans le domaine de l'agro-alimentaire.

### 2.1.1. Domaines d'utilisation

#### 2.1.1.1. Recherche fondamentale

Dans le cadre de la recherche fondamentale, la transgénèse constitue une source d'innovations permanentes.

*Études à l'échelle du génome*

Ses premières applications concernaient la compréhension du ou des rôle(s) que joue un gène donné. Ces études permettaient l'ajout de gènes dans le génome d'un individu, ou encore la suppression de gènes ciblés. Une fois cette compréhension suffisante, il fut ensuite possible de modifier les gènes désirés afin de reproduire des mutations existantes par exemple.

*Études à l'échelle d'un tissu biologique*

La transgénèse a également permis de développer des protocoles d'étude à l'échelle d'une population cellulaire, d'un tissu ou encore d'un organe. Il est ainsi possible de citer des méthodes telles que l'expression conditionnelle tissu-dépendante à l'aide de complexes géniques comportant un promoteur ne s'exprimant que dans un organe donné (foie, cœur, pancréas…). D'autres techniques relativement récentes existent. C'est le cas de l'optogénétique *(Figure 7)* qui permet d'activer ou d'inactiver des neurones précis de manière beaucoup plus fine que par stimulation électrique comme réalisé auparavant.

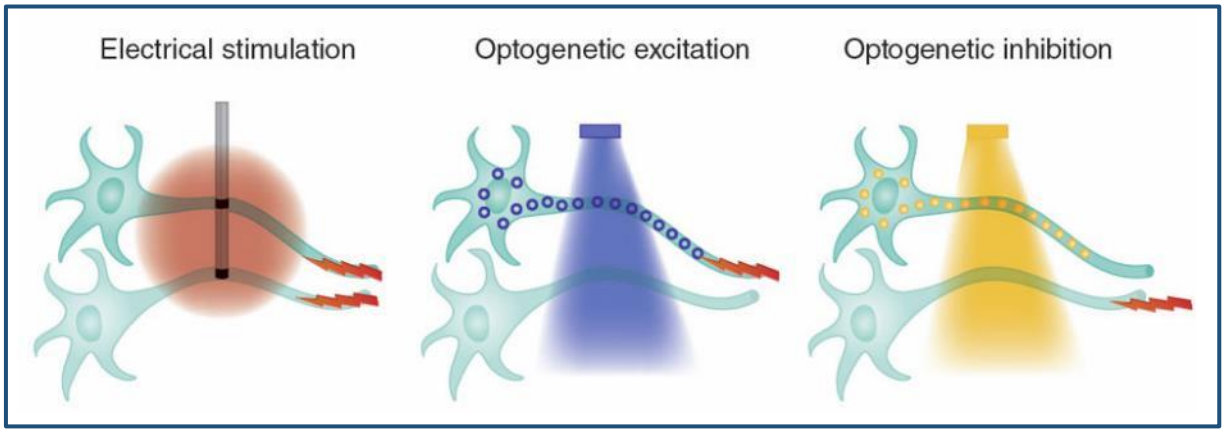


***Figure 7 :*** *Principes de l'optogénétique*[72]

*Des animaux génétiquement modifiés présentent un gène conduisant à la synthèse de protéines photoactivables, les opsines, à la surface de certaines populations de neurones. Il s'agit de canaux ioniques qui, une fois activés, permettent une dépolarisation ou une hyperpolarisation du neurone stimulé. Chaque type d'opsine réagit à des longueurs d'onde différentes et peut conduire ainsi à une activation ou inhibition du neurone. Pour générer une stimulation lumineuse, il convient d'implanter une fibre optique en contact avec le tissu nerveux à stimuler et d'émettre ensuite les impulsions lumineuses nécessaires.*

*<u>Exemple :</u> Les souris de la lignée **Thy1-ChR2-YFP** expriment une opsine sensible à la lumière bleue, la channelrhodopsine 2, dans certaines régions du cerveau, et en particulier dans le cortex moteur*[73]*. En utilisant des stimulations lumineuses, il est donc possible d'étudier l'impact sur la contraction musculaire et les mouvements associés.*

Un second outil, les DREADDs (Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs)[74] permet d'étudier l'effet de l'activation ou de l'inhibition sélective temporaire et contrôlée de populations neuronales ciblées in vivo. Des récepteurs inhibiteurs ou activateurs sont exprimés dans des populations sélectionnées par transduction virale. Ces récepteurs sont sensibles à une molécule n'ayant aucune autre action cellulaire. L'administration systémique de l'agoniste en question, la clozapine-N-oxyde (CNO), conduit à l'activation du récepteur associé qui a son tour agit sur l'activité neuronale des cellules infectées[75].

*<u>Exemple :</u> Les souris de la lignée **Vglut2-ires-cre** expriment une Cre-recombinase dans les neurones glutamatergiques*[76]*. Cette protéine permettra aux vecteurs viraux utilisés de s'exprimer uniquement dans cette population précise de neurones. Ainsi, après administration de CNO, l'ensemble des neurones glutamatergiques seront inactivés temporairement.*

Il est donc possible de développer des protocoles de plus en plus fins grâce au développement de ces différentes techniques qui, de plus, peuvent en plus être combinées entre elles.

---

[72] DEISSEROTH, « Optogenetics ».
[73] The Jackson Laboratory, « Thy1-ChR2-YFP ».
[74] ROTH, « DREADDs for Neuroscientists », 17 février 2016.
[75] ARMBRUSTER et al., « Evolving the Lock to Fit the Key to Create a Family of G Protein-Coupled Receptors Potently Activated by an Inert Ligand ».
[76] The Jackson Laboratory, « Vglut2-ires-cre ».

#### 2.1.1.2. Recherche appliquée

*Études physiopathologiques*

Certaines affections ont une origine génétique, ou tout du moins des prédispositions génétiques. C'est le cas par exemple de nombreux cancers tels que le cancer du sein. Pour comprendre le développement de ces maladies, des lignées de souris transgéniques développant des tumeurs mammaires sont créés afin de découvrir des moyens de les enrayer. Ces modèles sont constamment affinés afin de mimer de façon la plus précise possible les affections humaines.

*Développement de traitement*

L'utilisation d'animaux génétiquement modifiés permet de développer des traitements en les testant sur des modèles transgéniques tels que ceux précédemment cités. Une fois qu'un modèle est considéré comme satisfaisant, il sert de support aux études cherchant à mettre au point des thérapies destinées à être dispensées à l'Homme par la suite. Ces animaux peuvent également être utilisés pour des études toxicologiques des traitements développés.

*Thérapie génique*

La modification génétique d'un animal peut également avoir pour objectif de traiter une maladie individuelle. Des méthodes de modifications du génome peuvent alors être utilisées en vue de « réparer » des gènes défectueux ou de les inhiber afin de traiter certaines affections sur lesquelles la médecine « classique » n'a pas de prise.

Cet outil puissant constitue un réel espoir pour de nombreux malades mais elle nécessite à la fois de connaître le plus précisément possible les mécanismes d'expression génétique et de tester ces traitements sur des modèles animaux avant les phases cliniques chez l'Homme, entraînant un nombre accru d'animaux génétiquement modifiés.

#### 2.1.1.3. Applications thérapeutiques

*Synthèse de protéines thérapeutiques*

La transgénèse est aujourd'hui utilisée fréquemment dans le cadre de la synthèse de protéines à visée thérapeutique. Elle peut être utilisée chez des animaux, chez des végétaux ou encore des micro-organismes.

- Diverses protéines sanguines peuvent être synthétisées grâce l'utilisation d'animaux génétiquement modifiés. Ainsi, l'albumine humaine, utilisée fréquemment en cas de pertes hémorragiques importantes, peut être synthétisée dans le lait (bovins, ovins, caprins…).
- Des vaccins sont développés grâce à des végétaux. Des souches de bananes ont par exemple été génétiquement modifiées pour exprimer des antigènes de l'hépatite B[77]. Ces travaux visent à utiliser la voie orale comme voie d'administration de substitution à la voie sous-cutanée ou intra-musculaire afin de limiter certains effets indésirables et constituer une alternative de distribution simple notamment dans les pays défavorisés[78].

[77] KUMAR et al., « Expression of Hepatitis B Surface Antigen in Transgenic Banana Plants ».
[78] SALA et al., « Vaccine Antigen Production in Transgenic Plants ».

- L'insuline utilisée en médecine humaine, quant à elle, n'est plus l'insuline porcine mais bien d'origine humaine et est produite par des levures génétiquement modifiées pour exprimer le gène humain responsable.

Le choix de l'organisme utilisé dépendra de la nature de la molécule utilisée et également du rendement désiré. Par exemple, les insectes peuvent servir à produire des protéines thérapeutiques proches des protéines humaines puisqu'ils réalisent la glycolisation. Cependant, une production à grande échelle est difficile avec cette méthode, alors qu'une production via le lait d'un mammifère est beaucoup plus rentable.

*Développement d'organes artificiels*

L'idée d'utiliser des organes d'animaux dans le cadre de xénogreffes date du début du vingtième siècle mais n'a connu qu'un succès limité du fait des rejets engendrés, malgré l'utilisation par la suite d'immunosuppresseurs. Aujourd'hui, il est possible de créer des organes artificiels chez des animaux génétiquement modifiés. Le porc a été notamment choisi en raison des tailles d'organes similaires et certains ont donc été génétiquement modifiés afin que leurs organes soient rejetés moins fréquemment par le receveur[79].

### 2.1.2. Modèles d'animaux transgéniques

#### 2.1.2.1. Modèles de surexpression transgénique[80]

Ces modèles sont des animaux possédant plusieurs copies d'un transgène dans leur génome. Cela conduit donc à une surexpression du gène intégré et donc à une augmentation de l'expression protéique et la fonction correspondante.

Ces animaux sont de moins en moins utilisés et sont majoritairement obtenus par micro-injection. Le nombre de copies du transgène intégré dans le génome ne peut être contrôlé, pas plus que son niveau d'expression, qui dépend du promoteur utilisé, le nombre de copies insérées et le site d'insertion. L'aspect aléatoire de ces modèles peut cependant être contrecarré si le site d'insertion peut par la suite être repéré.

Outre la micro-injection, d'autres techniques ont été utilisées chez l'animal pour générer une surexpression comme l'utilisation de vecteurs ou le transfert de segments chromosomiques.

#### 2.1.2.2. Recombinaison[81]

Il s'agit de techniques permettant de contrôler plus finement le site d'insertion du transgène dans l'ADN de l'animal génétiquement modifié.

[79] HOUDEBINE, « Use of Transgenic Animals to Improve Human Health and Animal Production ».
[80] ANDERSEN et TUFIK, *Rodent Model as Tools in Ethical Biomedical Research*.
[81] HALL, LIMAYE, et KULKARNI, « Overview: Generation of Gene Knockout Mice ».

*Principe de la recombinaison homologue*

Il s'agit d'un événement au cours duquel des séquences nucléotidiques sont échangées entre deux molécules d'ADN identiques ou similaires. Ce phénomène intervient naturellement au cours de la méiose et conduit à un brassage génétique contribuant ainsi à l'évolution des espèces. Il est également utilisé par certains micro-organismes pour échanger du matériel génétique.

La recombinaison homologue est également possible entre une séquence exogène et une séquence endogène au sein d'un organisme. Cet événement est plus rare que l'intégration aléatoire dans le génome mais permet d'être plus précis quant au site d'intégration. Il constitue donc un outil de choix pour la transgénèse car il permet un ciblage du site d'intégration.

Des techniques basées sur la recombinaison homologue ont été développées et permettent deux types de réarrangement de séquences génomiques : le knock-out et son dérivé le knock-in.

*Le Knock-out* [82]

Il s'agit d'une stratégie visant à supprimer un gène donné en utilisant la recombinaison homologue. Un vecteur de ciblage est créé. Celui-ci contient :

- Des régions homologues à celles présentes dans l'ADN cellulaire, de part et d'autre de l'exon à supprimer.
- Un gène dit de sélection positive, permettant par exemple de rendre la cellule résistante à la néomycine s'il est exprimé. Ce gène est présent entre les régions homologues.
- Un gène de sélection négative à l'extérieur de la zone délimitée par les régions homologues permettant la sélection uniquement des cellules dans lesquelles la recombinaison homologue est survenue.

Le vecteur est introduit dans des cellules ES par électroporation. La recombinaison homologue à lieu au niveau des régions homologues. Celles du vecteur peuvent se fixer transitoirement sur la séquence correspondante au niveau de l'ADN cellulaire. Les sites compris entre ces régions vont ainsi s'inverser. Ainsi, si la recombinaison homologue s'est déroulée comme prévu, l'exon à supprimer n'est plus présent dans l'ADN cellulaire et a été remplacé par le gène de sélection positive *(Figure 8)*.

Il convient ensuite de sélectionner les cellules ayant intégré le vecteur. En exposant les cellules ES à de la néomycine, seules celles exprimant le gène de sélection positive peuvent survivre. Cependant, il est possible que le vecteur ait été intégré de manière aléatoire dans une autre portion du génome. Dans ce cas, le vecteur entier a été intégré avec le gène de sélection négative. Dans cet exemple, les cellules ayant intégré le vecteur entièrement expriment le gène HSV-tk qui conduit à la synthèse d'une thymidine kinase virale. Une exposition à la ganciclovir conduit à une mort de ces cellules.

Ainsi, en exposant les cellules ES à de la néomycine et du ganciclovir, seules les cellules ayant correctement intégré le vecteur sont sélectionnées et sont ensuite mises en culture. L'exon présent entre les régions homologues a donc été supprimé et n'est donc plus exprimé par la cellule.

[82] MANIS, « Knock-Out, Knock-In, Knock-Down - Genetically Manipulated Mice and the Nobel Prize »; HALL, LIMAYE, et KULKARNI, « Overview: Generation of Gene Knockout Mice ».

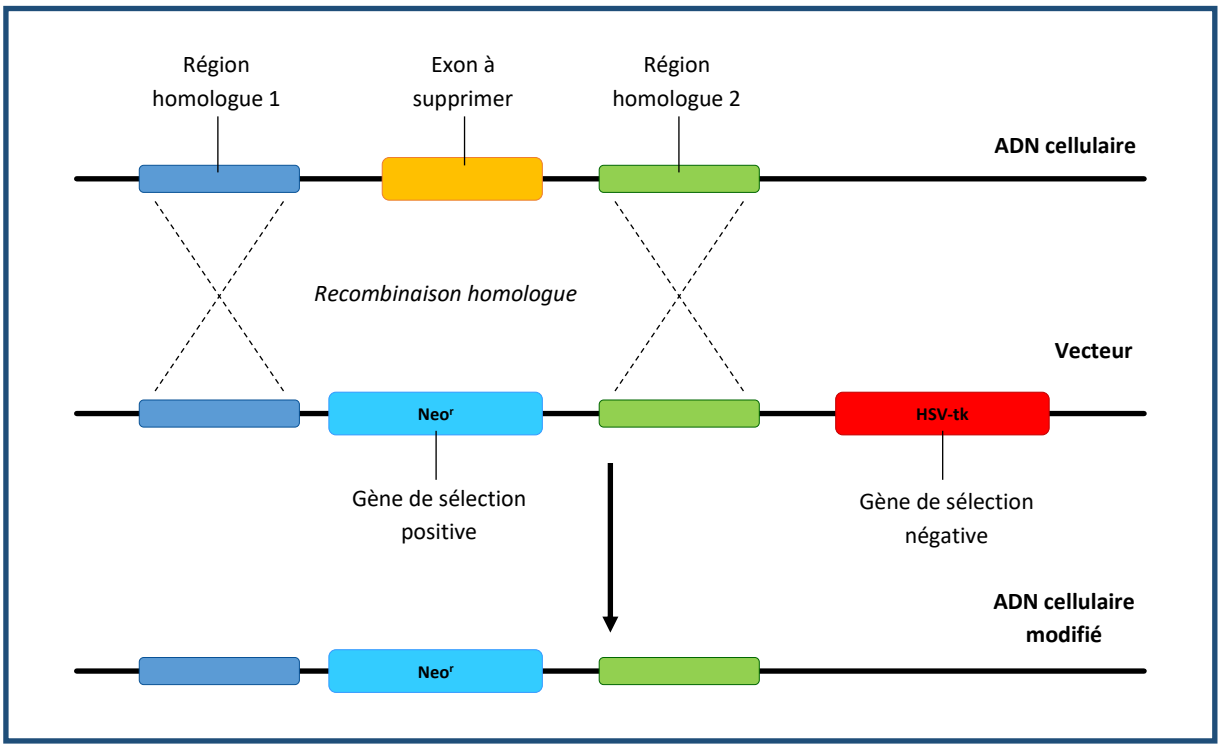


***Figure 8 :*** *Principe du knock-out*

*Le Knock-in* [83]

Dans ce cas particulier, le but est d'introduire un nouvel exon dans l'ADN cellulaire. Le principe est le même avec la présence d'un exon que l'on désire exprimer dans le vecteur *(Figure 9)*. La sélection des cellules ES est ensuite réalisée de la même manière.

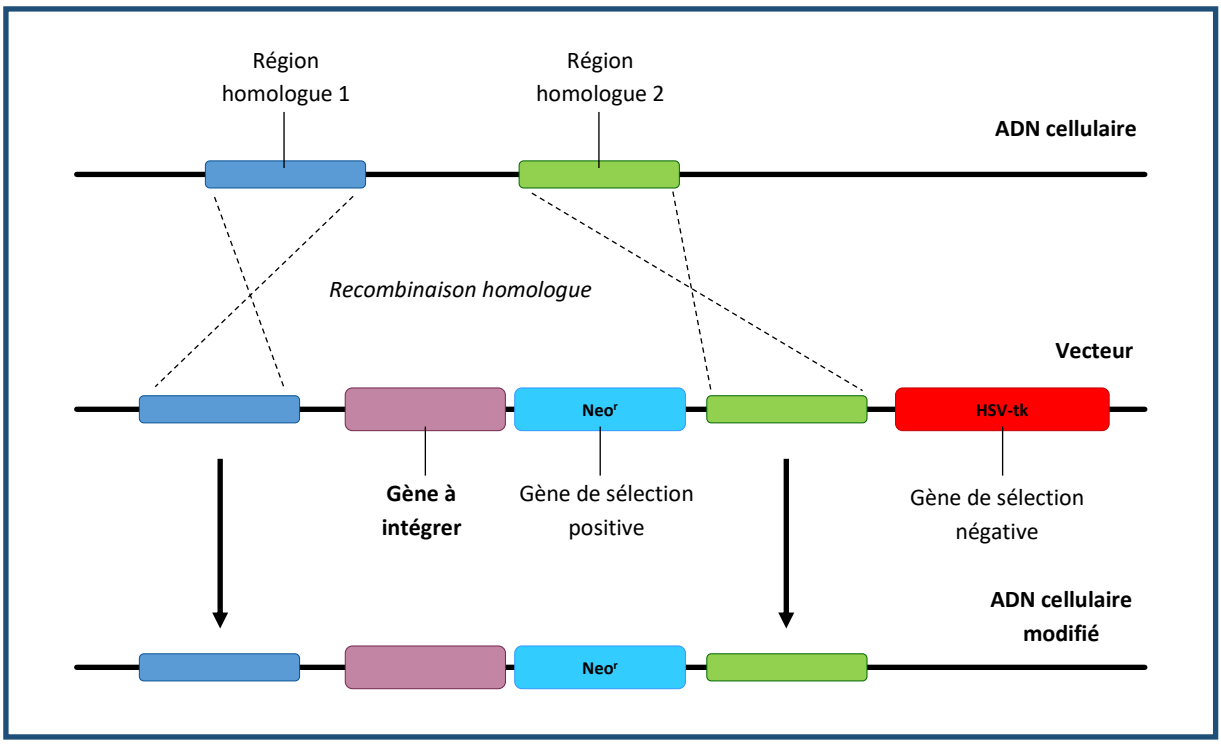


***Figure 9 :*** *Principe du knock-in*

[83] HALL, LIMAYE, et KULKARNI, « Overview: Generation of Gene Knockout Mice ».

*Technique Cre-Lox*

La technique Cre-Lox est une technique de recombinaison homologue très utilisée car elle permet de contrôler plus précisément la séquence ciblée. Cette séquence est bordée par des séquences spécifiques loxP constituées de 34 paires de bases. La séquence flanquée des sites loxP est dite floxée. La recombinaison n'est ensuite possible qu'en présence d'une enzyme particulière, la Cre-recombinase. Les cellules ciblées peuvent être mises en contact directement avec cette enzyme dans le cas de modification de cellules ES par exemple. Cela peut permettre notamment d'exciser les gènes de sélection positive *(Figure 10)*.

Un enjeu majeur de ce système est de contrôler le processus de recombinaison in vivo et pas seulement in vitro. Pour cela, il faut effectuer le croisement de deux lignées :

- Une lignée exprimant la Cre-recombinase sous le contrôle d'un promoteur propre à un tissu (foie, pancréas...) et/ou d'un facteur déclenchant externe (administration de tétracycline...) ; les éleveurs commercialisent de nombreuses lignées de ce type.
- La lignée exprimant le gène d'intérêt flanqué des séquences loxP sensibles à l'action de la Cre-recombinase.

Il résultera la naissance d'animaux exprimant cette double modification, ce qui permettra de déclencher le processus de recombinaison dans le tissu voulu au moment voulu. Il est également possible d'utiliser des animaux n'exprimant la Cre-recombinase qu'à un moment donné (âge, état physiologique…). C'est le cas de transgènes médiés par les œstrogènes par exemple.

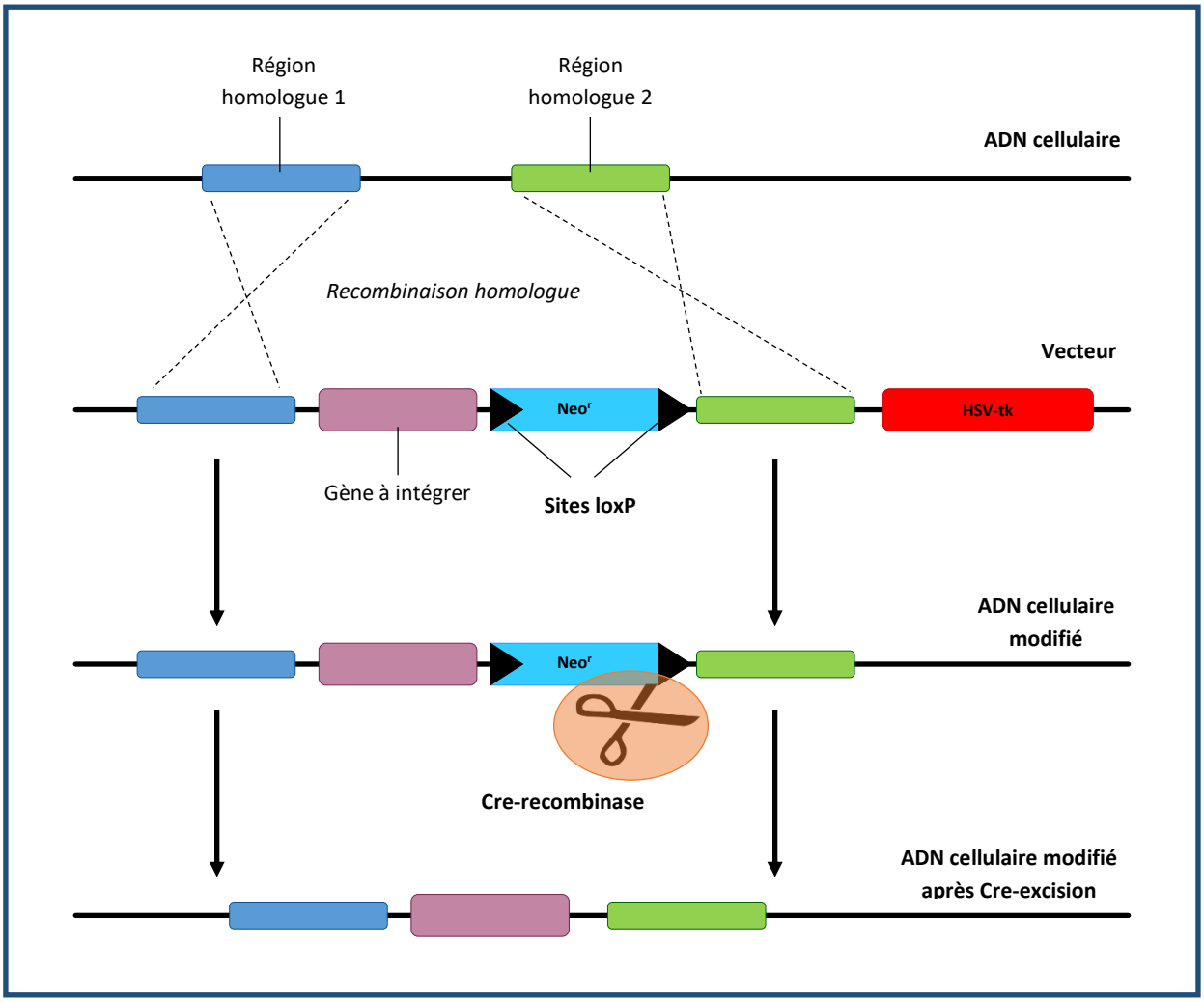


***Figure 10 :*** *Invalidation d'un gène de sélection positive par recombinaison Cre-Lox*

*Technique CRISPR / Cas9* [84]

Une nouvelle technique révolutionnaire a été développée en 2012[85]. Elle est basée sur un mécanisme de défense bactérienne contre les infections virales. Certaines bactéries possèdent des séquences appelés CRISPR (pour « Clustered Regularly Interspaced Palindromic Repeats » ou « courtes répétitions palindromiques regroupées et régulièrement espacées »). Ces séquences sont des sites bordant des portions d'ADN correspondant à des portions de génomes viraux. Ces séquences sont transmises à la descendance et permettent de détruire les virus correspondant lors de futures agressions. Des enzymes spécifiques, appelées les Cas (« CRISPR associated protein »), sont capables de « lire » les séquences comprises entre les sites CRISPR et sont ensuite programmées pour les reconnaître. Les Cas reconnaissent ensuite l'ADN viral correspondant et le clivent, conduisant à l'arrêt de l'infection.

Ce système est extrêmement prometteur puisqu'il permet de reconnaître des sites spécifiques de manière très précise. Une protéine similaire, la Cas9 a donc été isolée et constitue un système puissant. Il est de plus programmable car il est possible d'utiliser n'importe quel ARN-guide ; ce qui rend son potentiel très important en termes de modification d'ADN. Son coût est de plus moins important que les systèmes existants.

Il est ainsi possible de d'utiliser une Cas9 et de la programmer grâce à une séquence ARN guide pour une séquence correspondant à la séquence génétique à modifier. L'enzyme va ensuite reconnaître la séquence cible, s'y fixer transitoirement et cliver l'ADN double brin. Il est ainsi possible d'invalider un gène en utilisant cette méthode et les mécanismes de réparation existant au sein de la cellule. Il est également possible d'intégrer une nouvelle séquence d'ADN étranger qui pourra être intégré au génome à la suite du clivage selon le principe de la recombinaison homologue. La taille nécessaire de la séquence ARN guide pour l'appariement est de l'ordre de 20 nucléotides seulement et est donc très facile à désigner et synthétiser à un cout dérisoire.

De par sa facilité, son coût et son efficacité, ce système est de plus en plus utilisé. Les animaux obtenus après ce type de modifications comportent souvent non pas une, mais plusieurs modifications. Il est ainsi possible de créer des animaux transgéniques très facilement et il est donc très probable que cette découverte conduise à une augmentation de la production d'animaux transgéniques.

[84] DOUDNA, *How CRISPR lets us edit our DNA*; DOUDNA et CHARPENTIER, « The New Frontier of Genome Engineering with CRISPR-Cas9 ».
[85] JINEK et al., « A Programmable Dual-RNA-Guided DNA Endonuclease in Adaptive Bacterial Immunity ».

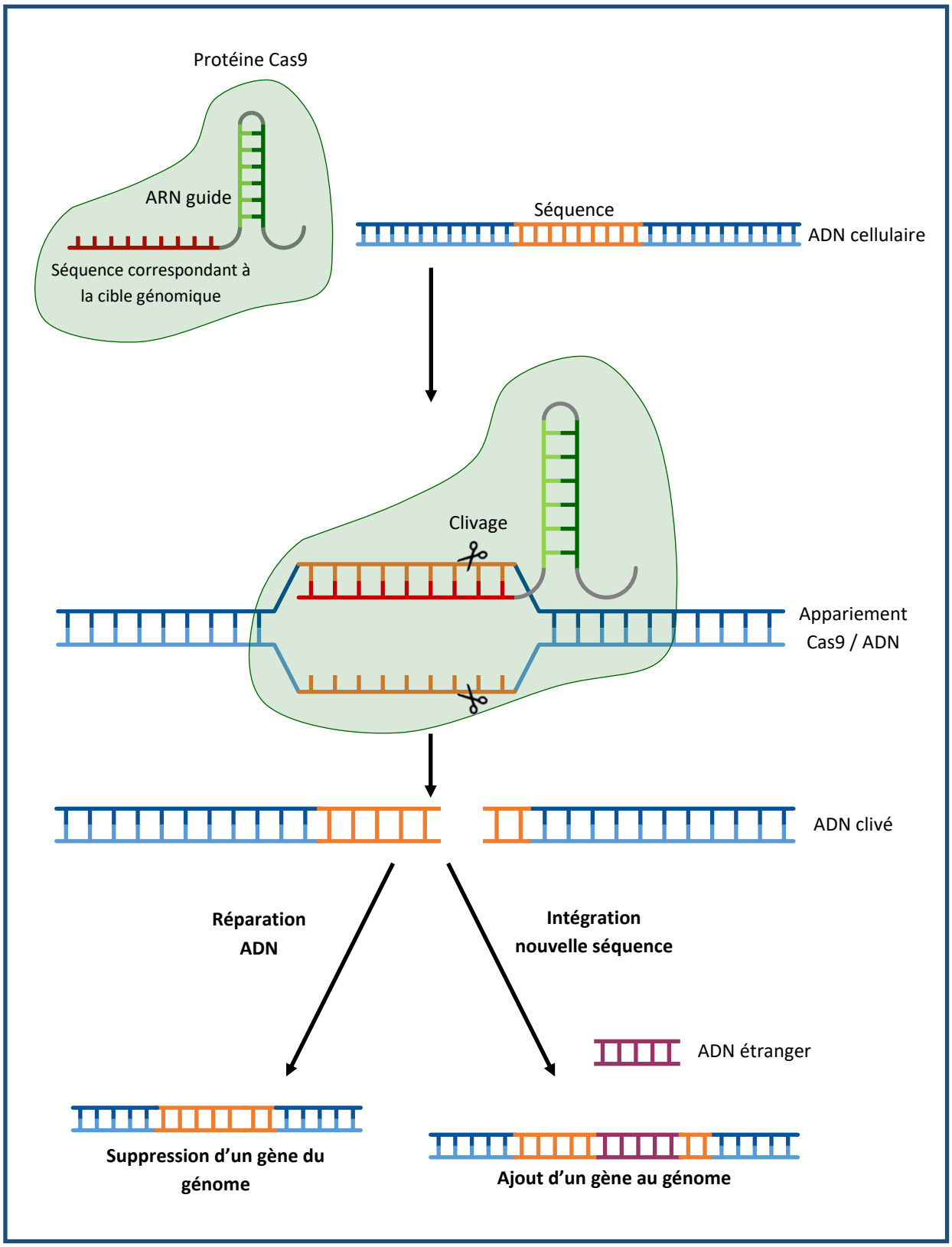


***Figure 11 :*** *Fonctionnement du système Cas9*

## 2.2. Techniques de transgénèse

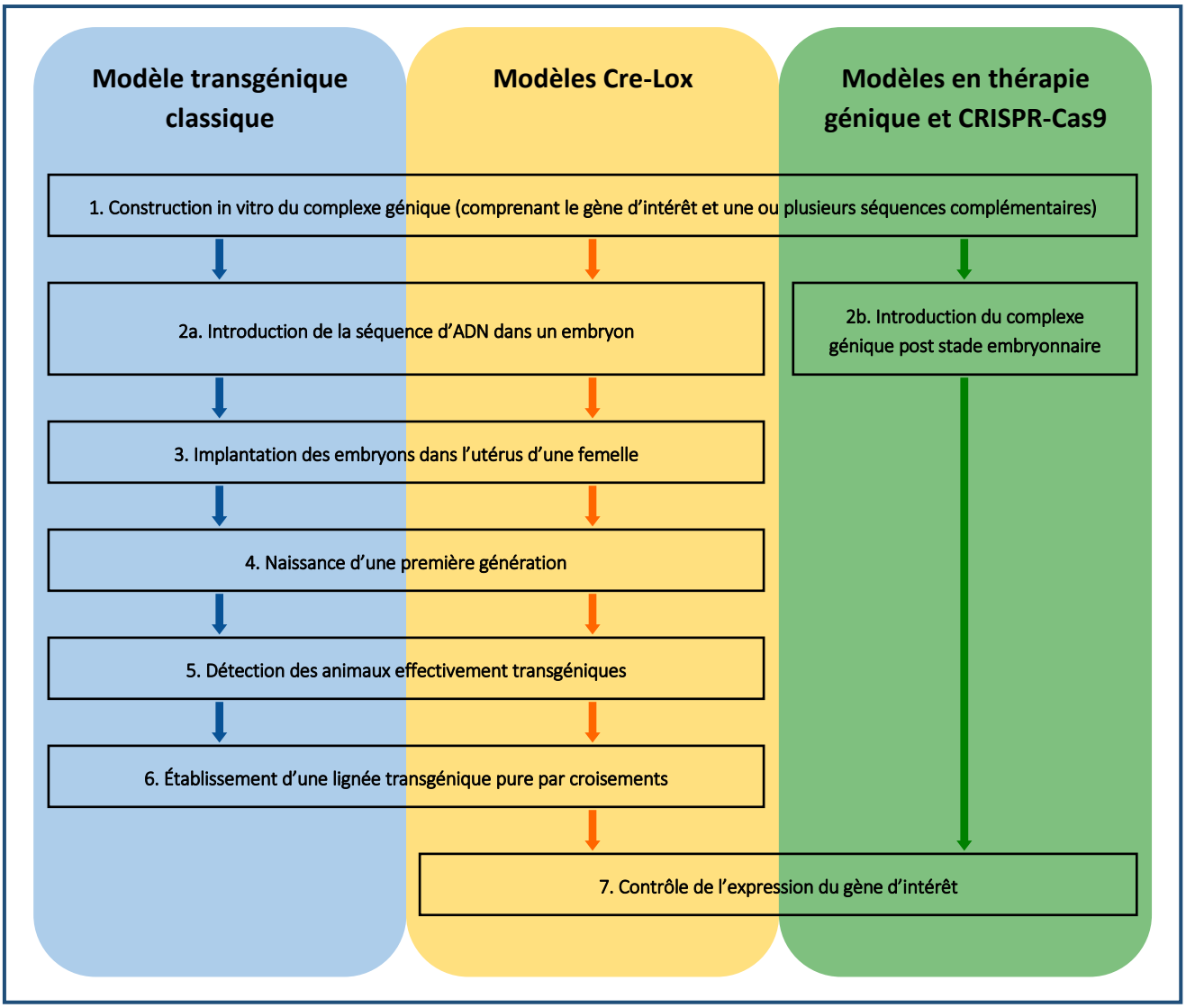


***Figure 12 :*** *Grandes étapes pour la génération d'une lignée transgénique*

Les bases de toute technique de transgénèse sont assez similaires *(**Figure 12**)*. Trois méthodes principales existent chez la souris, différant surtout par la technique d'introduction de l'ADN dans l'embryon :

- Micro-injection pronucléaire d'ADN dans le zygote fécondé ;
- Utilisation de vecteurs viraux ;
- Transfert ciblé de gènes in vitro dans les cellules embryonnaires au stade blastocyste par recombinaison homologue.

Nous allons nous intéresser plus précisément à la transgénèse appliquée à la souris puisqu'elle constitue le modèle de prédilection pour les manipulations génétiques animales. Il existe d'autres méthodes restant peu utilisées par rapport à celles citées ci-dessus et ne seront donc pas développées. On peut par exemple citer l'utilisation de YAC (Yeast Artificial Chromosome), permettant d'insérer des séquences de taille beaucoup plus importante[86], ou encore la modification directe de spermatozoïdes.

[86] JAKOBOVITS, LAMB, et PETERSON, « Production of Transgenic Mice with Yeast Artificial Chromosomes ».

### 2.2.1. Avantages et inconvénients des techniques utilisées

***Tableau 5 :*** *Avantages et inconvénients comparés des trois techniques principales de transgénèses*[87]

| | Micro-injection | Vecteurs viraux | Cellules ES |
|---|---|---|---|
| **Avantages** | • Méthode de référence<br>• Efficacité à produire des lignées transgéniques avec une expression souvent prévisible des gènes intégrés<br>• Méthode relativement simple à mettre en œuvre (nécessite d'identifier et d'amplifier le gène désiré uniquement)<br>• Temps de développement d'une lignée relativement court | • Intégration d'un seul exemplaire du transgène<br>• Méthode relativement simple à mettre en œuvre et ne nécessite pas de matériel perfectionné<br>• Efficacité<br>• Plus simple techniquement car injection sous la membrane périvitelline<br>• Intégration « propre » : sans rappariement<br>• Possibilité d'avoir plusieurs copies | • Possibilité d'utilisation de la méthode Cre-lox<br>• Possibilité d'addition, de délétion ou de substitution<br>• Possibilité d'utiliser les méthodes précédentes sur les cellules ES |
| **Inconvénients** | • Seule l'addition d'un gène est possible (pas de délétion ou de substitution)<br>• Intégration au hasard donc effets secondaires difficile à prévoir du fait de la multitude de sites d'insertion possible et du nombre d'exemplaires pouvant être intégrés<br>• Technique fine nécessitant de la dextérité et de l'entraînement | • Cellules somatiques infectées plus fréquemment que cellules germinales<br>• Site d'intégration variable<br>• Technique nécessitant des manipulations de virus et donc des précautions quant au confinement des animaux pouvant relarguer des particules virales<br>• Mosaïcisme<br>• Difficulté d'avoir une seule intégration<br>• Nécessite de maitriser la production et la manipulation des vecteurs | • Technique efficace mais surtout chez la souris (animal à gestion courte et portées importantes)<br>• Équipements nécessaires, techniques à mettre en œuvre et coûts importants<br>• Temps de développement d'une lignée relativement long |
| **Rendement**[88] (nombre d'embryons modifiés et transférés / nombre d'animaux transgéniques obtenus) :<br>• Micro-injection : 2 %<br>• Vecteurs lentiviraux : 40 % | | | |

[87] JAENISCH, « Transgenic Animals »; GORDON, « Transgenic Technology and Laboratory Animal Science »; BABINET et COHEN-TANNOUDJI, « Vingt ans d'interventions délibérées sur le génome de la souris ».
[88] Statistiques internes au CPG

### 2.2.2. Construction in vitro du complexe génique

*Mise en contact direct*

Lorsque la technique permet une modification génétique *in vitro*, il est possible de mettre le complexe génique directement en contact avec la culture cellulaire. Une électroporation peut également être réalisée par application d'un champ électrique déstabilisant les membranes. L'ADN étant chargé négativement, il migre vers la charge positive et pénètre dans les cellules.

En cas d'utilisation d'une séquence d'ADN seule, l'intégration se fera aléatoirement dans le génome. En revanche, il est possible de réaliser une insertion plus précise en utilisant le principe de recombinaison homologue, ou les techniques Cre-Lox ou CRISPR-Cas9.

*Micro-injection*

Dans le cadre d'une micro-injection, la séquence d'ADN d'intérêt doit être isolée et amplifiée afin d'en obtenir un très grand nombre. Cet ADN est mis en solution afin de pouvoir être injecté.

L'efficacité de la micro-injection dépendra :

- De la pureté de la solution ;
- De la concentration en ADN (suffisamment pour optimiser l'intégration mais pas trop pour ne pas obtenir une solution trop visqueuse) ;
- De la nature de l'ADN qui s'intègre plus facilement lorsqu'il est linéaire ;
- De la présence d'introns dans les gènes injectés, qui semblent faciliter leur transcription future.

*Construction de vecteurs viraux*

Certains virus, comme les rétrovirus, possèdent intrinsèquement tous les outils nécessaires à l'intégration d'information génétique dans le génome d'une cellule puisque c'est de cette manière qu'ils peuvent se reproduire. L'utilisation de ce vecteur permet d'infecter des embryons et d'y insérer une séquence d'ADN d'intérêt. Les embryons ainsi modifiés sont ensuite réimplantés dans l'utérus de femelles pseudo-gestantes.

La nature de l'information génétique à intégrer dépendra du type de virus utilisé. En effet, des virus capables d'intégrer leurs gènes au génome de leur hôte le font à partir d'ADN ou d'ARN. Les rétrovirus par exemple ont une information génétique sous forme d'ARN double brin et une enzyme, la transcriptase inverse, permettant d'obtenir une séquence d'ADN correspondante qui pourra ensuite s'intégrer au génome de l'hôte.

L'ARN des rétrovirus leur permet de synthétiser, grâce aux outils de traduction de la cellule infectée :

- Les protéines virales structurelles nécessaires à la structure du virus ;
- Les enzymes permettant le passage d'ARN viral à de l'ADN et son intégration.

D'autres séquences, dîtes régulatrices, sont également présentes. Il s'agit des séquences LTR 5' (en amont de l'ARN), LTR 3' (en aval) et Ψ. Les séquences LTR permettent la rétro-transcription de l'ARN virale en ADN (LTR 5') en rendant possible la fixation de la rétrotranscriptase et l'intégration de l'ADN ainsi obtenu dans le génome de la cellule infectée. La séquence Ψ, quant à elle, est responsable de l'encapsidation des ARN viraux dans de nouvelles particules virales.

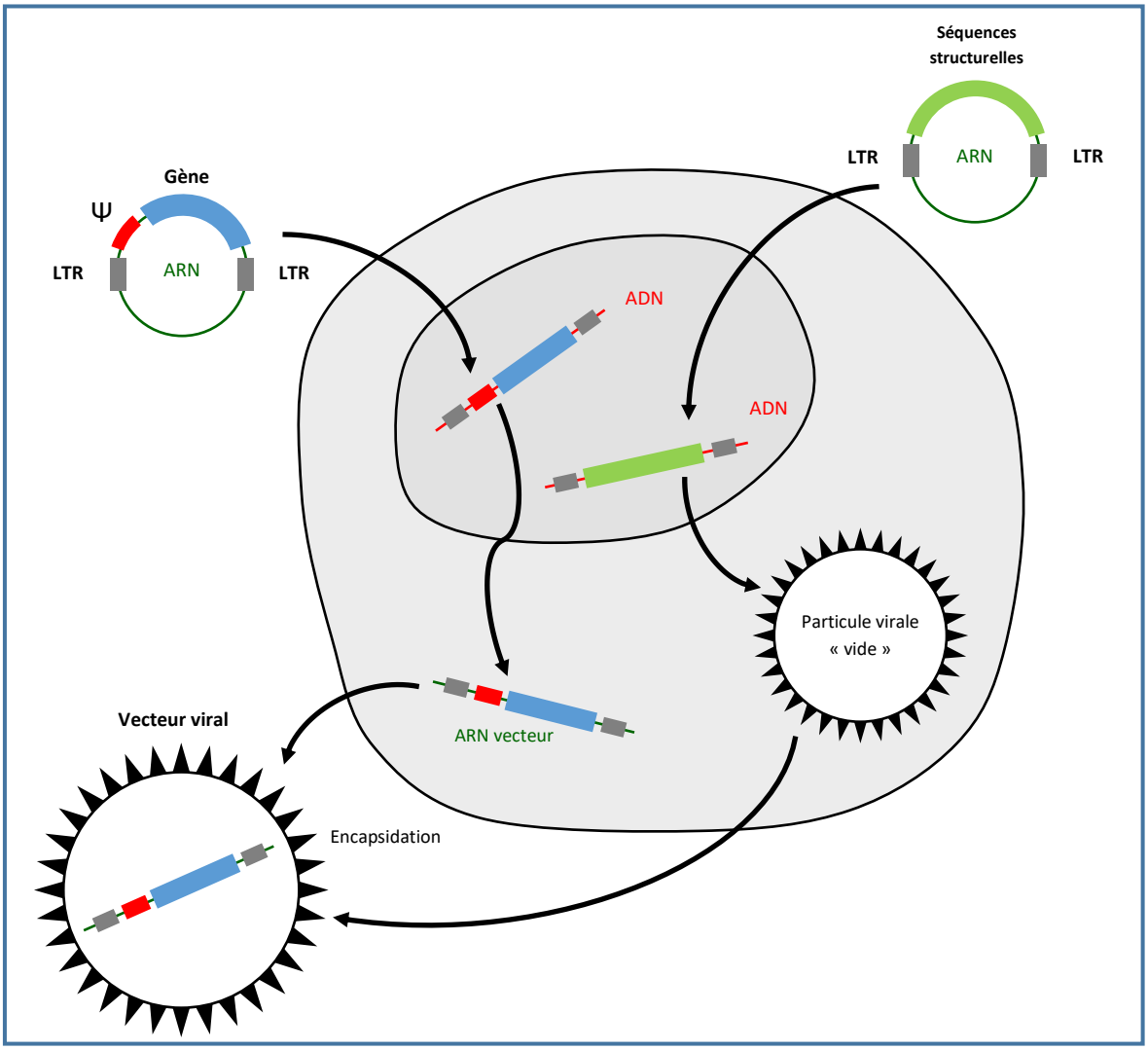


***Figure 13 :*** *Principe de création d'un vecteur viral de transgénèse*[89]

Les vecteurs viraux sont créés en réalisant une transfection d'une cellule avec un plasmide contenant les séquences virales nécessaires et le gène d'intérêt que l'on souhaitera intégrer *(Figure 13)*. Seules les séquences LTR, Ψ, sont contenues dans le plasmide. Les protéines structurelles du futur vecteur sont apportées par un autre plasmide. Ainsi, la séquence Ψ permettra l'encapsidation et la création de futurs vecteurs. Ceux-ci pourront être utilisés pour transduire les futurs embryons. Le fait que l'information génétique de ces vecteurs ne contienne pas les séquences des protéines structurelles du virus empêchera toute multiplication du vecteur.

[89] LEHN, « Vecteurs Rétroviraux Pour Le Transfert de Gènes Dans Le Tissu Hématopoïétique in Vivo ».

### 2.2.3. Introduction de la séquence d'ADN

#### 2.2.3.1. Introduction de la séquence d'ADN dans un embryon

*Prélèvement des zygotes fertilisés*

Dans le cadre des techniques de transgénèse, il est important de choisir des lignées ayant une productivité élevée en termes des zygotes. Les femelles sélectionnées sont stimulées par injections hormonales successives à deux jours d'intervalle. La première injection mime l'effet de l'hormone folliculo-stimulante (FSH) et a pour but de stimuler le développement des follicules ovariens. La seconde mime l'effet de l'hormone lutéinisante afin d'achever la maturation folliculaire et de stimuler l'ovulation.

L'accouplement est ensuite réalisé et les oviductes sont ensuite récoltés chez les femelles mises à mort environ 12h plus tard. Environ 25 zygotes peuvent ainsi être récoltés chez chaque femelle. Ils sont incubés, traités avec une enzyme lysant la membrane pellucide les protégeant et enfin rincés.

*Micro-injection*

La création d'un animal transgénique est basée, dans le cadre de cette technique, sur l'injection du matériel génétique d'intérêt directement dans un des pronuclei d'un zygote fécondé. Les zygotes micro-injectés peuvent ensuite être implantés directement dans l'utérus d'une femelle pseudo-gestante.

Cette technique nécessite un savoir-faire très technique et plusieurs mois d'entraînement pour l'opérateur la réalisant.

Les zygotes sont disposés dans une boîte de Pétri dans une goutte de milieu de culture recouverte d'huile afin de limiter l'évaporation sous l'effet de la lampe du microscope. Une micropipette de contention sert à maintenir le zygote grâce à une légère aspiration. Une seconde micropipette permet l'injection d'un picolitre de solution contenant l'ADN dans le pronucléus mâle, plus gros que le pronucléus femelle. Les zygotes sont ensuite implantés au plus tard le lendemain dans une autre femelle.

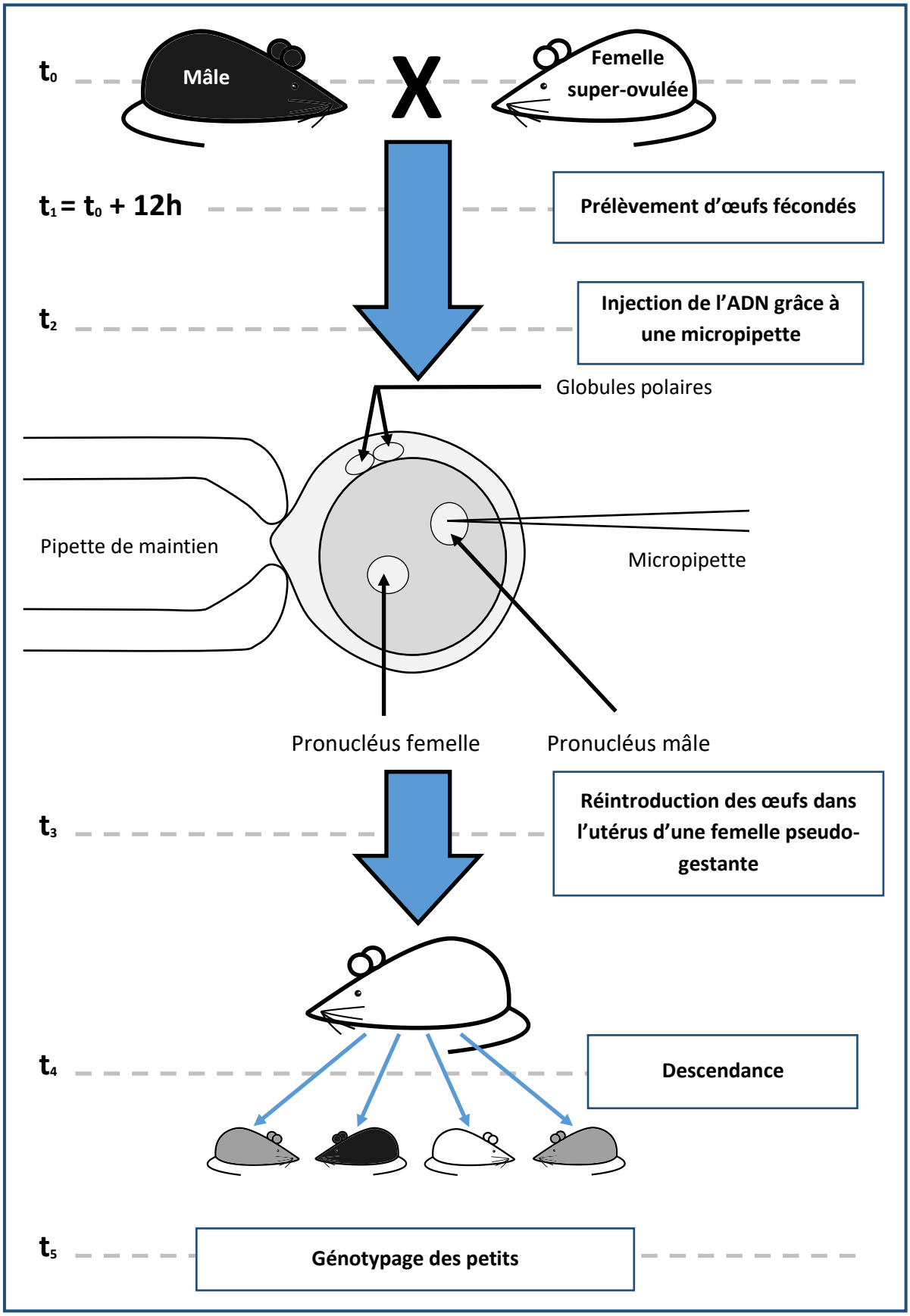


***Figure 14 :*** *Étapes principales de l'obtention de souris transgéniques par micro-injection pronucléaire*[90]

[90] DENAIS, « Les animaleries pour animaux transgéniques ».

Sur le total des zygotes micro-injectés, seuls 10-20 % d'entre eux se développeront et pourront être menés au terme de la gestation. Et seuls 15-25 % des animaux nés porteront effectivement le transgène. Cela revient donc à un rendement compris entre 1.5 et 5 % seulement par rapport au nombre des zygotes modifiés par micro-injection.

De plus, il est à noter que cette méthode ne permet pas d'avoir un contrôle précis sur l'intégration du transgène :

- Le site d'intégration est aléatoire et la modification peut donc être silencieuse en cas d'intégration à des régions non codantes ou délétère si elle affecte l'expression d'autre(s) gène(s).
- Le nombre de copies du transgène intégrées est imprévisible et peut influencer sur l'intensité de l'expression et augmente le risque de mauvaise intégration.

Enfin, la micro-injection conduit souvent à la création d'animaux mosaïques qui doivent ensuite être sélectionnés afin de ne conserver que ceux présentant le gène d'intérêt dans leurs cellules germinales.

*Transduction des embryons*

On réalise des prélèvements d'embryons selon la même méthode que précédemment mais à un stade de développement plus tardif (4 ou 8 cellules) et la membrane pellucide peut être lysée. Il est possible ensuite de mettre les embryons en contact avec un stock de vecteurs. Le plus souvent la membrane pellucide est conservée, afin de garantir une meilleure viabilité des embryons, et les vecteurs sont micro injectés sous cette membrane.

*Modification des cellules ES*

Cette technique est donc basée sur l'utilisation d'une population de cellules particulière : les cellules ES (pour « cellules souches embryonnaires »). Il s'agit de cellules récoltées à partir d'embryons précoces (blastocyste) de souris. De nombreuses lignées de cellules ES sont disponibles commercialement, pouvant être issues de différentes lignées murines, en particulier la lignée inbred 129[91]. Elles ont la particularité d'être totipotentes, de pouvoir être implantées dans n'importe quel tissu et de présenter un potentiel de division permanent. Leur utilisation, après modification de leur information génétique, permet donc d'intégrer un transgène dans les cellules germinales d'un individu.

Pour modifier le génome des cellules ES, un plasmide contenant la séquence génétique désirée doit y être introduit. Cette introduction est le plus souvent réalisée par électroporation ou micro-injection. L'intégration au génome est permise par recombinaison homologue ou grâce à d'autres systèmes que nous verrons par la suite (Cre-Lox, CRISPR-Cas9 notamment).

Il convient ensuite de sélectionner les cellules ES modifiées et de poursuivre leur culture. Elles sont ensuite injectées dans le blastocœle d'un embryon receveur issu d'une souris donneuse. Il sera ensuite transféré dans l'utérus d'une femelle pseudo-gestante afin que son développement se poursuive.

[91] The Jackson Laboratory, « 129S4/SvJaeJ ».

Dans la majorité des cas, les animaux obtenus par cette technique sont chimériques. L'utilisation de souris à pelages différents (cellules ES / blastocyste) permet de détecter facilement les chimères qui présenteront un pelage bigarré. Il faut ensuite s'assurer que leur lignée germinale est bien issue du développement des cellules ES modifiées. Un croisement entre les animaux chimériques obtenus et une lignée à pelage différent peut permettre de vérifier si la lignée germinale participe à la transmission de modifications génétiques à la descendance. Si des animaux à pelage foncé naissent, il s'agit d'animaux génétiquement modifiés. Il faut cependant toujours génotyper les animaux pour confirmer la modification génétique et sa transmission.

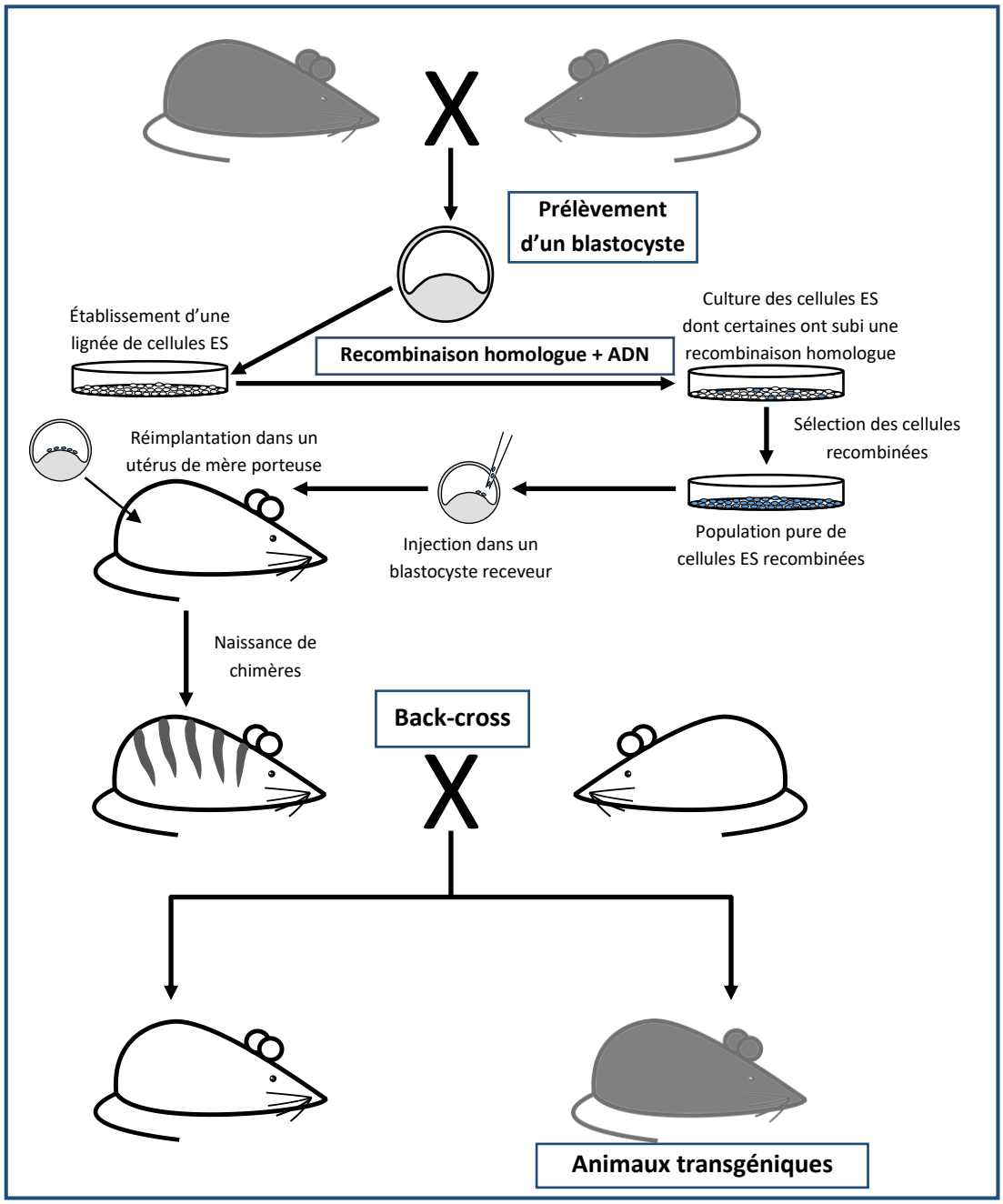


***Figure 15 :*** *Étapes de la transgénèse par utilisation de cellules ES*[92]

[92] HOUDEBINE, « Transgenic Animals ».

#### 2.2.3.2. Introduction du complexe génique post stade embryonnaire[93]

Dans le cadre de procédure de thérapie génique, ou grâce au système CRISPR-Cas9, il est possible d'introduire le transgène chez un animal après sa naissance. L'administration peut être réalisée par voie intra-veineuse, avec l'avantage d'une utilisation facile et comme principale difficulté l'adressage du complexe génique. Une injection directement dans le tissu cible est possible mais la diffusion du transgène n'est généralement pas satisfaisante.

Lors d'une administration intra-veineuse, afin que le gène d'intérêt ne s'exprime que dans le tissu ciblé, il est possible :

- De l'associer à un promoteur tissu-spécifique ;
- D'utiliser un vecteur viral possédant un tropisme pour le tissu ciblé (l'avantage étant que les virus sont facilement modifiables) ;

Il est enfin possible de réaliser des administrations *ex vivo*. Pour cela il convient de prélever des cellules de l'hôte (dépendant de l'affection à traiter). La transfection est ensuite réalisée in vitro et les cellules sont réinjectées chez le sujet.

### 2.2.4. Implantation des embryons dans l'utérus d'une femelle

Les femelles allant servir de mères porteuses sont rendues pseudo-gestantes lors de leur phase d'œstrus par des mâles vasectomisés, ou des mâles $t^{w2}/t^{w2}$ génétiquement stériles[94], afin de mimer hormonalement une fécondation et ainsi optimiser le développement embryonnaire.

L'implantation est réalisée chirurgicalement par injection des zygotes dans l'oviducte (sous microscope). Pour une vingtaine de zygotes implantés, on peut espérer la naissance de 5 petits.

### 2.2.5. Naissance d'une première génération et détection des animaux effectivement transgéniques

Il convient par la suite de détecter les animaux ayant intégré le transgène. Ils sont donc génotypés à partir d'un petit prélèvement tissulaire par PCR le plus souvent afin de détecter la présence ou non de la séquence d'intérêt. Il est ainsi possible de déterminer si la modification génétique s'est déroulée comme prévue (type de modification, site…)

Cependant, l'intégration du transgène n'est pas suffisante. Il est également nécessaire que le gène intégré soit exprimé comme désiré. Cela peut être vérifié de différentes manières tels que le phénotypage, la visualisation de protéines marqueur ou encore la couleur du pelage.

Les animaux exprimant le gène d'intérêt sont ensuite reproduits afin de créer une lignée transgénique. Du fait de possibles animaux mosaïques dans la première génération, la seconde devra être testée de la même manière afin de déterminer quels individus ont intégré le transgène dans leurs cellules germinales.

[93] HELLEZ, « Les utilisations de la thérapie génique ».
[94] MGI - Mouse Nomenclature, « Brachyury (T) Gene Detail».

### 2.2.6. Établissement et maintien de lignée

Les expériences utilisant des animaux transgéniques se déroulent souvent sur de longues périodes. De plus, différentes études peuvent travailler sur les mêmes animaux. Il est donc nécessaire que des lignées d'animaux transgéniques soient créées et entretenues, soit par les laboratoires les utilisant, soit par des fournisseurs pour les animaux les plus fréquemment utilisés (Jackson Laboratory, Charles River, Janvier…)

Une fois que la modification désirée est portée de manière certaine par les animaux obtenus, la création d'une lignée peut être entreprise. Les souris doivent donc être capables de se reproduire de manière acceptable et ne doivent pas être soumises à des contraintes.

- Lorsque les animaux sont fertiles et ne présentent pas de phénotypes invalidants, la reproduction ne pose pas de problème.
- Lorsque les animaux présentent un phénotype invalidant, la gestion de l'élevage devient délicate. Cela peut passer par :
    - Une mise à mort précoce en cas de phénotype tardif, afin que celui-ci ne puisse pas s'exprimer ;
    - Une maitrise de la contrainte par des mesures environnementales ou thérapeutiques ;
    - Une gestion génétique.

Exemples de cas simples :

- Allèle *T* dominant sur un allèle *t*, *t* étant la version d'intérêt. Le phénotype lié à l'allèle *t* est exprimé seulement dans le cas d'une homozygotie *t/t*. La reproduction est donc possible entre des animaux *t/t* et *T/t*. Ce croisement donnera naissance à 50 % d'individus *T/T* qui ne seront pas utilisés et 50 % d'individus *T/t*, qui serviront à entretenir la lignée.

| | ***T*** | ***T*** |
|---|---|---|
| ***T*** | ***T/T*** | ***T/T*** |
| ***t*** | ***T/t*** | ***T/t*** |

Afin d'obtenir des animaux *tt* nécessaires aux phases expérimentales, il suffira de croiser au besoin des individus *Tt* afin d'obtenir 25 % d'individus d'intérêt.

- Allèle *T* dominant sur un allèle *t*, *T* étant la version d'intérêt. Le phénotype lié à l'allèle *T* est exprimé dans le cas d'une homozygotie *T/T* ou d'une hétérozygotie *T/t*. La reproduction entre des individus *T/T* et *T/t* donnera naissance à 50 % de *T/T* et de *T/t*. L'homozygotie pour le gène d'intérêt dominant pouvant être souvent létale, il sera préféré un croisement entre *t/t* et *T/t*.

| | ***t*** | ***t*** |
|---|---|---|
| ***T*** | ***T/t*** | ***T/t*** |
| ***t*** | ***t/t*** | ***t/t*** |

Si les procédures expérimentales nécessitent des individus hétérozygotes *T/t*, ce croisement pourra être utilisé. Si les animaux d'intérêt sont les homozygotes *T/T*, un croisement entre individus *T/T* et *T/t* sera préféré. Dans le cadre de modifications plus complexes (cas de codominances ou de modifications multiples), les mesures d'élevages seront plus contraignantes et génèreront encore plus d'animaux non utilisables.

### 2.2.7. Contrôle de l'expression du gène d'intérêt

Dans le cadre de l'utilisation de techniques, telles que le système Cre-Lox, il est possible de ne déclencher l'expression du transgène qu'au moment désiré. Cette méthode a l'avantage de pouvoir contrôler les éventuels phénotypes invalidants.

Ainsi, il est possible que le transgène soit sous la médiation d'un promoteur activable pour une molécule donnée. Dans ce cas, l'administration de la substance en question pourra déclencher l'expression du phénotype désiré.

Lorsque le gène d'intérêt est flanqué de sites loxP, un croisement avec une souris exprimant une cre-recombinase dans le tissu désiré permet d'obtenir des animaux exprimant le gène d'intérêt. Il n'est donc pas nécessaire d'entretenir une lignée de ces animaux présentant un phénotype non désirable dans le cadre de l'élevage. Ce sont les deux lignées (celle exprimant la Cre-recombinase et celle donc les gènes est floxé) qui seront entretenues. L'avantage est de réduire toute contrainte d'origine génétique dans le cadre de l'élevage. En revanche, le nombre d'animaux nécessaire est augmenté.

## 2.3. Nomenclature actuelle[95]

En parallèle à l'augmentation de l'utilisation d'animaux transgéniques, il est devenu essentiel d'utiliser un système de nomenclature efficace et normalisé afin de désigner les lignées génétiquement modifiées créées à travers le monde, notamment dans les différentes publications scientifiques. L'utilisation d'une nomenclature claire et homogène permet également d'optimiser la surveillance de ces lignées transgéniques et d'assurer la qualité génétique sur des dizaines de générations et des centaines élevages.

Le nom donné à la lignée doit ainsi fournir un maximum d'informations tout en restant manipulable au quotidien par les personnes utilisant ces animaux. Des règles de nomenclatures ont ainsi été proposées par des organismes internationaux, comme le Comité International de Nomenclature Transgénique Normalisée chez la Souris. Les règles de nomenclature, faisant consensus actuellement, concernant les rongeurs de laboratoire sont actualisées chaque année et hébergées sur le site du Jackson Laboratory[96]

Les lignées consanguines sont désignées par un symbole unique composé de lettres majuscules, ou d'une combinaison de lettres et de chiffres. Concernant les lignées les plus utilisées, des abréviations approuvées peuvent être utilisées à la place (*B6* pour *C57BL/6* par exemple). Lorsque deux lignées consanguines sont croisées, les souris obtenues portent successivement les désignations de la femelle fondatrice puis du mâle fondateur. À la suite se trouve le numéro de génération (*F2* pour 2ème génération par exemple) et enfin le code du laboratoire entretenant la lignée.

[95] RÜLICKE et al., « FELASA Guidelines for the Production and Nomenclature of Transgenic Rodents ».
[96] EPPIG, BLAKE, et McANDREW, « MGI - Mouse Nomenclature ».

Concernant les lignées transgéniques, le nom commence par la désignation du fond génétique séparé par un trait d'union de l'annotation Tg, pour désigner l'utilisation de la transgénèse additive. Ensuite vient le nom de l'insert génétique réalisé entre parenthèses. Enfin viennent le numéro du fondateur de la lignée et les codes désignant les laboratoires ayant créé et entretenu la lignée.

***Figure 16 :*** *Exemple de désignation d'une lignée transgénique*[97]

D'autres désignations sont utilisées dans le cadre d'autres modifications génétiques, comme les mutations *(Cf. Figure 62 en annexes)*.

Les noms obtenus via l'utilisation de cette nomenclature ont l'intérêt de résumer les informations générales concernant les lignées utilisées. Cependant, avec le développement de modèles transgéniques toujours plus complexes, il devient de compliqué de construire des noms pour toutes les situations, comme par exemple suite au croisement de plusieurs lignées de souris transgéniques.

[97] The Jackson Laboratory, « Mouse Gene and Strain Nomenclature Tutorial ».

## 3. LIMITES DE L'UTILISATION DES ANIMAUX TRANSGÉNIQUES

Il est déjà possible à l'heure actuelle de constater les nombreux intérêts liés à la création et l'utilisation d'animaux transgéniques. Cependant, ce domaine de la biologie présente également plusieurs types d'inconvénients non négligeables. Il peut s'agir de limites liées aux techniques de transgénèse actuelles ou de de limites liées à la complexité du vivant. La principale est cependant sans doute la barrière éthique que les scientifiques doivent se fixer pour un domaine aussi sensible que la transgénèse.

### 3.1. Ensembles de contraintes imposées aux animaux

En premier lieu, il est indéniable que la transgénèse est une source de multiples contraintes pour les animaux, qu'elles soient dues à des procédures invasives, à la modification génétique réalisée ou encore à l'entretien des lignées créées.

#### 3.1.1. Contraintes liées aux techniques

Lors de la production d'animaux transgéniques, de nombreuses procédures peuvent représenter des contraintes imposées aux animaux. Ainsi, les animaux utilisés pour la création des fondateurs d'une lignée sont nécessairement soumis à des procédures expérimentales et à des souffrances potentielles, du fait de des chirurgies ou encore des injections hormonales.

*Récolte d'ovocytes ou d'embryons*

Dans le cadre d'une technique de micro-injection, il est nécessaire de récolter des ovocytes. Pour se faire, les femelles doivent être hormonalement stimulées par plusieurs administrations. Outre les injections en elles-mêmes, la procédure constitue évidemment un stress pour l'animal.

À la suite de cela, un accouplement est réalisé avec des mâles stériles afin de rendre les femelles pseudo-gestantes. Il est suivi d'une vérification qu'un bouchon vaginal s'est bien formé, ce qui constitue une nouvelle source de stress pour l'animal.

Enfin, après l'accouplement, les femelles sont mises à mort afin de récolter les ovocytes. Dans le cadre de l'utilisation de cellules ES, ce sont des blastocystes qui sont prélevées.

*Mâles stériles*

Il est à noter que la création de mâles stériles est également une source de contraintes. Il existe 2 méthodes pour cela :

- Chirurgie de vasectomie : elle consiste en une ligature des canaux déférents des mâles. Il est donc nécessaire de mettre en place des mesures anesthésiques et analgésiques adaptées qui permettent de réduire la contrainte mais qui sont néanmoins associées à un risque.
- Mâle transgéniques stériles[98] : les mâles stériles majoritairement utilisés sont des homozygotes $t^{w2}/t^{w2}$ pour le gène t situé sur le chromosome 17. L'allèle $t^{w2}$ est récessif et il est donc nécessaire de réaliser des croisements $T/t^{w2}$ X $T/t^{w2}$, l'allèle T étant récessif et létal.

[98] MGI - Mouse Nomenclature, « Brachyury (T) Gene Detail ».

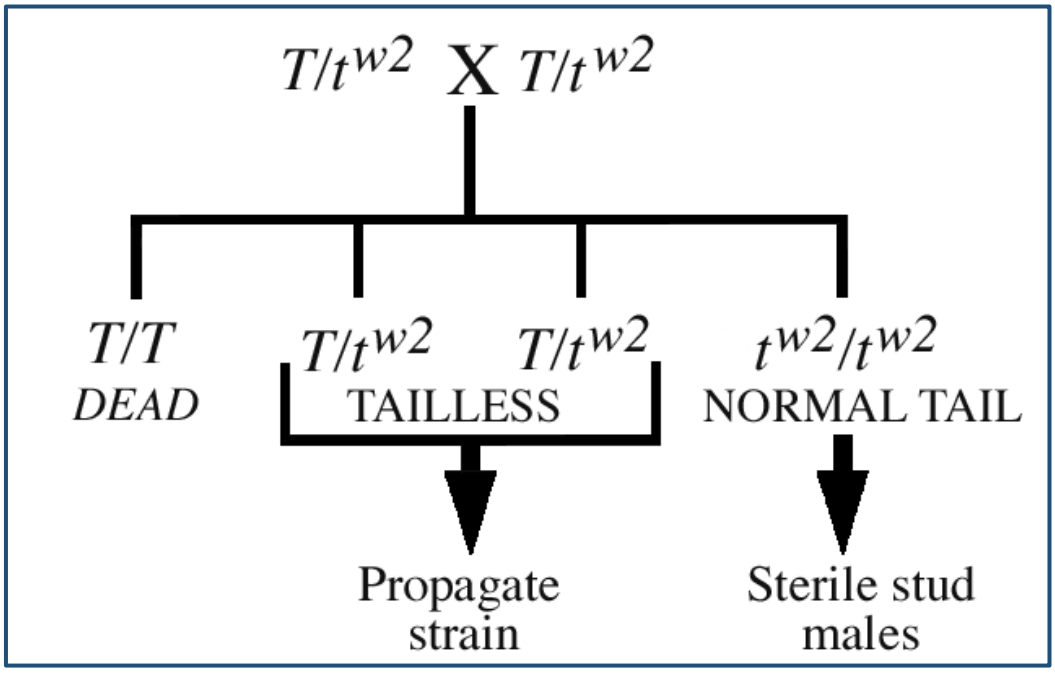


***Figure 17 :*** *Schéma d'élevage de mâles transgéniques stériles*[99]

Les animaux hétérozygotes $T/t^{w2}$ obtenus sont parfaitement viables et fertiles. Ils serviront à la reproduction et l'entretien de la lignée. Ils sont par ailleurs aisément phénotypables puisqu'ils n'ont pas de queue. Les mâles stériles sont les homozygotes $t^{w2}/t^{w2}$ qui ont une queue normale. Cependant, l'entretien de la lignée conduit inévitablement à des contraintes du fait :

- Des mesures de reproduction en elles-mêmes ;
- D'une production d'une majorité d'hétérozygotes $T/t^{w2}$ qui ne seront pas tous mis à la reproduction et dont certains seront donc mis à mort ;
- De la létalité de l'homozygotie *T/T* ;
- De l'inutilité des femelles homozygotes $t^{w2}/t^{w2}$.

*Phénotypage/Génotypage*

Outre les manipulations stressantes pour les animaux obtenus, leur caractérisation peut également nécessiter des procédures invasives.

Le phénotypage peut être réalisé par simple observation dans certains cas, mais dans d'autres, il est nécessaire de soumettre les animaux à des tests métaboliques ou comportementaux.

Par ailleurs, le génotypage des animaux est réalisé par analyse de prélèvements tissulaires ou cellulaires réalisés la plupart du temps par prises de sang ou biopsies.

Ces procédures stressantes, en plus de nuire au bien-être animal, peuvent biaiser les expériences réalisées et perturber la reproduction des animaux.

[99] Silver, *Mouse Genetics*.

### 3.1.2. Contraintes liées aux modèles

*Modèle de surexpression*

Dans le cadre de modèles basés sur la surexpression d'un gène donné, il y a synthèse en quantité non physiologique d'une protéine donnée. Ces modèles étant le plus souvent utilisés dans le cadre de la compréhension des fonctions de gènes particuliers, il est difficile de prévoir à long terme les effets d'une telle augmentation d'activité anabolique sur un organisme pour une protéine donnée. De plus, il est difficile de contrôler quantitativement la surexpression d'un gène dans ces modèles et cela rend encore plus difficile une prévision des effets sur les animaux génétiquement modifiés. L'expression est, par ailleurs, souvent trop faible.

*Insertions aléatoires du transgène*

Lors de l'intégration d'un transgène dans des cellules en vue d'une modification génétique, il est possible que celui-ci soit intégré de manière aléatoire dans le génome. Cela permet d'augmenter la fréquence d'intégration par rapport aux méthodes basées sur la recombinaison homologue, mais empêche également le contrôle sur les sites d'insertion. De plus, même en utilisant une technique permettant de cibler une région donnée du génome, il est également possible que des intégrations aléatoires se produisent.

Ce type d'intégration peut être désiré pour déterminer par exemple si des régions du génome intègrent des transgènes plus fréquemment que d'autres. Cependant ces modèles sont imprévisibles quant au phénotype des animaux créés. Il est ainsi possible que les gènes intégrés ne soient pas du tout exprimés lorsqu'ils s'intègrent au niveau de sites de régions non codantes. Mais il est également possible que ces gènes s'intègrent au sein de gènes endogènes et les invalident. Il est dès lors impossible de prévoir l'impact de ces manipulations sur la santé des animaux transgéniques. L'insertion peut être létale pour l'embryon ou pour l'adulte, ou conduire à des contraintes plus ou moins sévères. Le caractère imprévisible de ce type d'intégration complique également la gestion des phénotypes invalidants car il devient difficile d'affirmer avec certitude qu'un symptôme est lié au génotype ou non.

*Invalidation d'un gène*

Dans le cadre d'une production d'animaux transgéniques basée sur le knock-out avec comme objectif l'invalidation d'un gène, il n'est pas toujours possible de prévoir les éventuels phénotypes invalidants en découlant. Ces inactivations génétiques constituent une source potentielle de contraintes importantes pour les animaux transgéniques et nécessitent une vigilance accrue.

### 3.1.3. Contraintes liées à l'élevage

Lors de l'entretien d'une lignée transgénique, le schéma d'élevage ne permet pas toujours d'empêcher l'apparition de phénotypes invalidants. Les animaux peuvent donc être soumis à des contraintes ayant comme origine la modification génétique réalisée.

Une autre conséquence importante concerne la production d'animaux surnuméraires lors de la production et de l'entretien des lignées transgéniques. En effet, la reproduction peut être réalisée par des parents hétérozygotes pour le gène d'intérêt par exemple, afin notamment d'éviter la déclaration d'un phénotype invalidant. Les animaux d'intérêts parmi la descendance ne seront donc que les homozygotes pour l'allèle désiré et ne représenteront donc que 25 % des descendants. Une partie des hétérozygotes pourront servir à entretenir la lignée, mais plus de la moitié des descendants ne seront pas intéressants du point de vue de l'expérience. Dans certains cas, ces animaux serviront à d'autres recherches, mais ils devront le plus souvent être mis à mort.

## 3.2. Complexité génétique du vivant

*Interaction avec l'environnement*

La gestion des phénotypes invalidants nécessite de tenir compte de l'impact de l'environnement sur la santé des animaux. En effet, il est tout à fait possible de considérer une contrainte comme une expression phénotypique et d'ainsi négliger une origine environnementale (infectieuse, traumatique…). Par exemple, le prolapsus rectal peut avoir pour origine une prédisposition génétique mais certains agents infectieux comme les bactéries du type *Helicobacter* peuvent également être à l'origine de ce symptôme[100]. Il est donc nécessaire de bien connaître les symptômes dont l'origine peut être ambiguë afin d'être le plus précis possible dans la gestion des lignées transgéniques. Les contaminations de ce type ne sont pas rares et peuvent survenir d'autant plus fréquemment lorsque les animaux sont transférés entre différentes structures. Ce risque de confusion entre un effet génétique et un effet environnemental est régulièrement soulevé par la communauté scientifique, en pointant même l'influence de variations de la flore digestive commensale.

Les effets peuvent cependant être beaucoup plus subtils. En effet, la pression infectieuse trop importante peut affaiblir le système immunitaire d'un animal sans pour autant qu'il ne déclare de maladie. A l'inverse, un système immunitaire trop peu stimulé peut augmenter l'incidence d'affections à médiation immune et ne représentera pas la physiologie normale d'un animal dans des conditions sanitaires classiques.

Enfin, l'expression du génome est elle-même modulée par les interactions avec l'environnement. Certains facteurs, qu'il s'agisse de l'alimentation, de l'activité physique ou encore du stress, peuvent favoriser le développement d'affections ayant par ailleurs des facteurs génétiques prédisposants. C'est par exemple le cas de l'obésité qui peut avoir une composante génétique mais qui peut être aggravée par une alimentation trop riche ou un manque d'exercice[101]. Il est donc particulièrement important de bien connaître le modèle transgénique utilisé ainsi que les conditions d'hébergement afin d'optimiser la gestion des phénotypes invalidants.

[100] Charles River Laboratories, « Technical sheet - Helicobacter species ».
[101] ROMAO et ROTH, « Genetic and Environmental Interactions in Obesity and Type 2 Diabetes ».

*Interactions avec le reste du génome*

Outre les facteurs environnementaux, il est important de noter que le phénotype d'un animal transgénique n'est pas uniquement le résultat de l'expression du génome modifié. En effet, le fond génétique, ou d'autres gènes modifiés, peuvent avoir un impact sur le phénotype. De même, la fraction du génome modifiée peut elle-même avoir un impact sur l'expression d'autres gènes et conduire à des affections de gravité plus ou moins importante[102], ce qui explique des variations importantes en fonction du sexe ou de l'âge.

Cette limite peut être très importante lors de l'utilisation de lignées « inbred » pour l'étude d'affections polygéniques. Des lignées dites « outbred » ont donc été développées. Ces lignées hétérogènes visent à reproduire une diversité génétique afin de refléter au mieux les conséquences phénotypiques des populations naturelles. Ces lignées peuvent être très informatives pour de nombreuses études mais rendent plus difficile le suivi et la détection de phénotypes potentiellement invalidants car il devient délicat de déterminer si l'origine d'un symptôme est génétique ou non.

Le choix du fond génétique utilisé est donc crucial étant donné ses interactions potentielles avec les modifications génétiques.

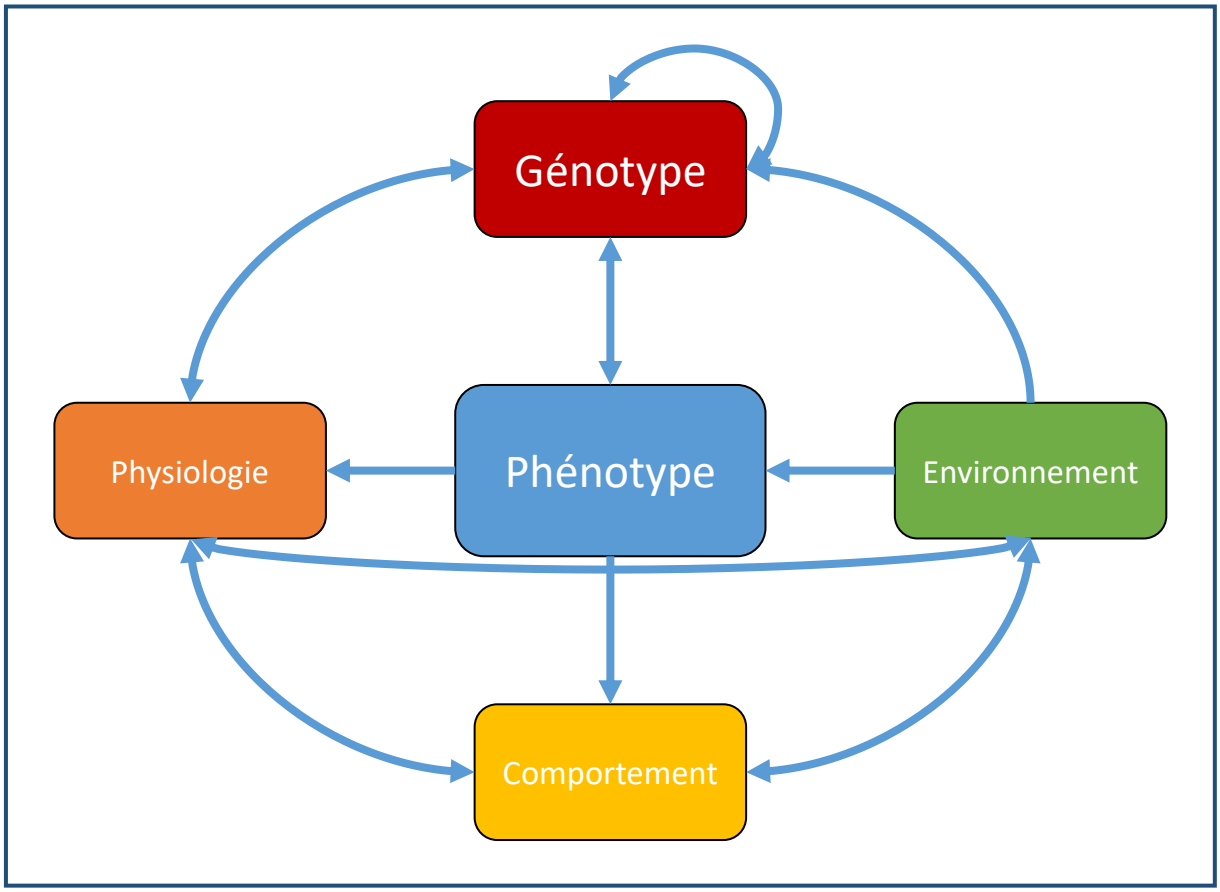


***Figure 18 :*** *Schémas des paramètres pouvant influencer le phénotype*

[102] MONTAGUTELLI, « Effect of the Genetic Background on the Phenotype of Mouse Mutations ».

## 3.3. Transposition à l'être humain

Une des principales critiques avancées par les détracteurs de l'expérimentation animale concerne le manque de fiabilité des modèles transgéniques utilisés, même si s'ils sont affinés de plus en plus. Le fait d'utiliser un modèle animal dans le cadre de recherches fondamentales, visant à être appliquées par la suite à l'être humain, n'a pas toujours été concluant car les résultats des études chez les souris génétiquement modifiées n'étaient pas toujours observés dans les phases cliniques chez l'homme, mettant en cause le choix des gènes étudiés.

Par ailleurs, la création d'un modèle adapté est un processus pouvant durer plusieurs années. En effet, il est nécessaire de développer et d'étudier plusieurs lignées faisant intervenir des modifications génétiques différentes. Les résultats doivent ensuite être comparés afin de déterminer quel modèle est le plus représentatif. Cette création de lignées conduit à l'utilisation d'un grand nombre d'animaux, en particulier lorsque les opérations successives présentent un rendement faible. De plus, le maintien de ces lignées peut également nécessiter un très grand nombre d'animaux, d'autant plus que les études seront longues et si les animaux ne peuvent pas être élevés à l'état d'homozygote. En effet, que ce soit dans le cadre des procédures expérimentales ou de l'élevage, les animaux peuvent déclarer des phénotypes invalidants. L'élevage conduit ainsi à la production d'animaux surnuméraires, qui sont la plupart du temps mis à mort, et qui peuvent être soumises à des contraintes.

Pour ces raisons, des consortiums de recherche et des plateformes d'expertise à l'échelle internationale permettent de mettre en place des centres d'élevage et d'échange de lignées afin de centraliser la production des animaux transgéniques les plus couramment utilisés et ainsi réduire la production d'animaux. Des méthodes de cryopréservation ont également été développées et perfectionnées pour éviter d'avoir à entretenir des lignées non utilisées.

## 3.4. Abord éthique de la transgénèse

Pendant longtemps, le bien-être des animaux ne constituait qu'une préoccupation secondaire lors d'études basées sur l'expérimentation animale. Ce manquement avait pour raison principale une méconnaissance de la sensibilité animale, héritage de la représentation « d'animal/machine » des siècles précédents. Néanmoins, le traitement des animaux de laboratoire s'est significativement amélioré ces dernières années.

L'utilisation du modèle animal dans les recherches fondamentales et appliquées destinées à l'Homme reste tout de même indispensable à l'heure actuelle. En effet, malgré les progrès spectaculaires réalisés en matière de bio-informatique ou d'utilisation de cultures cellulaires, celles-ci ne peuvent pour le moment pas se substituer à l'utilisation d'animaux.

De plus, avec l'avènement de la transgénèse, les possibilités de modifications des animaux utilisés sont quasi-illimitées et peuvent conduire à de nombreuses dérives. La dimension éthique est donc essentielle et doit être source de débats au fur et à mesure des progrès réalisés car, comme toute avancée scientifique, la transgénèse peut être utilisée à des fins non tolérables, que ce soit en termes d'instrumentalisation d'animaux de laboratoire ou dans un futur proche d'animaux de rente. La puissance des outils de modification génétique, alliée à la connaissance du génome humain, est également une porte ouverte vers l'eugénisme. Il est donc indispensable de faire preuve de la plus grande prudence à l'égard de ce domaine de la recherche.

Plus spécifiquement, ces modifications génétiques, plus encore que les autres types d'expériences, peuvent potentiellement entraîner des souffrances chez les animaux utilisés. Elles peuvent être directement liées aux transformations apportées au génome ou être secondaires à ces manipulations. Ainsi, les animaux utilisés pour la création des fondateurs d'une lignée sont nécessairement soumis à des procédures expérimentales et soumis à des souffrances potentielles, du fait de des chirurgies ou encore des injections hormonales. Une autre conséquence importante concerne la production d'animaux surnuméraires lors de la production et de l'entretien des lignées transgéniques. Dans certains cas, ces animaux serviront à d'autres recherches, mais ils devront le plus souvent être mis à mort.

Il est cependant important de noter que des progrès non négligeables ont été réalisés, que ce soit en matière de technique ou de connaissance des animaux utilisés. Le développement de techniques de transgénèse contrôlée en utilisant des promoteurs inductibles notamment a permis d'avoir une emprise plus fine sur l'apparition de phénotypes invalidants.

Si l'Homme s'est accordé le droit d'utiliser l'animal afin d'améliorer ses connaissances et de ce fait ses possibilités d'actions dans le domaine de la santé, cela lui confère également des responsabilités morales. La législation est là pour poser des normes sur cet esprit de protection animale que des comités de scientifiques et éthiciens contribuent à faire évoluer au fur et à mesure des progrès techniques.

Ainsi, les contraintes infligées aux animaux sont très réglementées. Ceci est vrai dans tous les pays d'Europe, tout comme en Suisse. Il convient donc de déclarer lors des demandes d'autorisation d'utilisation d'animaux en expérimentation un degré de contrainte maximale auquel seront soumis les animaux. La réglementation suisse ajoute à cela un aspect d'instrumentalisation excessive de l'animal visant à protéger la dignité de l'animal. Chaque nouveau projet conduit donc à une pesée des intérêts afin de ne limiter les expériences qu'à ce que les autorités jugent acceptables par rapport aux bénéfices potentiels.

La santé des animaux doit être rigoureusement suivie par la suite afin de garantir un respect des autorisations par application des critères d'interruption prévus notamment. Dans le cadre de l'utilisation d'animaux transgéniques, cette surveillance permet de détecter les potentiels phénotypes invalidants et de les caractériser. L'objectif de cette investigation est de répertorier l'ensemble des phénotypes invalidants afin de pouvoir créer une base de données à grande échelle pouvant servir aux scientifiques lors de leurs recherches futures et aux soins à réaliser sur ces animaux.

Chaque structure hébergeant des projets de transgénèse animale doit donc mettre en place un système de surveillance et de caractérisation des lignées génétiquement modifiées créées ou hébergées et transmettre les résultats aux autorités. J'ai donc contribué à développer un outil dans ce but au sein de l'EPFL.

# Partie III – Gestion des phénotypes invalidants à l'EPFL par la mise en place d'un système informatique de détection et de caractérisation

## 1. CONTEXTE

Durant l'été 2014, j'ai eu la chance de travailler au sein du CPG, à l'EPFL, afin d'y accomplir différentes missions, parmi lesquelles, réfléchir au développement d'un nouveau système de détection et de gestion des phénotypes invalidants présentés par les rongeurs hébergés à l'EPFL. En effet, l'entrée en vigueur d'une nouvelle législation exigeante vis-à-vis des contrôles des contraintes imposées aux animaux, et en particulier aux animaux génétiquement modifiés, nous imposait de revoir le système en place.

D'autre part, la gestion des cas d'animaux malades n'était pas optimale car réalisée uniquement grâce à des mails et des tableaux Excel. J'ai donc commencé à imaginer un système à mettre en place afin de concilier la gestion de la santé animale avec la surveillance des contraintes imposées aux animaux et des phénotypes invalidants. L'idée de créer un outil informatique dédié était assez évidente.

Durant cet été, j'ai ainsi commencé à analyser les exigences de la législation, notamment les nouvelles contraintes réglementaires à surveiller, et je les ai mises en rapport avec celles déjà observées par la vétérinaire afin de les compiler en une liste unique. Pour permettre leur détection et leur notification par l'ensemble du personnel, j'ai relié ces contraintes à des localisations corporelles et ai imaginé une manière simple de notifier aux services vétérinaires la ou les zones affectées par des sélections sur un schéma d'animal depuis l'interface du logiciel. J'ai donc conçu des schéma en y incluant, représentées par des couleurs différentes, toutes les zones potentiellement affectées par une contrainte. J'ai également conçu des fiches dédiées à la documentation des contraintes contrôlées par les animaliers.

Cette partie détaillera le système mis en place, initié durant l'été 2014 et continué en collaboration avec d'autres acteurs de la structure hôte jusqu'à son état actuel 2 ans plus tard. J'ai ainsi pu tester le logiciel de gestion des cas d'animaux malades créé dès avril 2015 et à plusieurs reprises par la suite. J'ai alors proposé des améliorations à la suite d'observations personnelles et après avoir distribué une série de questionnaires aux utilisateurs du système mis en place.

Cette partie veillera à expliciter le contexte initial du projet dans un premier temps. Puis, je détaillerai la mise en place et le fonctionnement du nouvel outil CaseTracker, suivi d'une explication des mesures correctives à prendre lors de la détection de contraintes. Enfin, je dresserai un bilan de la situation, avec les avantages et les limites actuelles du système.

## 1.1. Présentation de la structure hôte[103]

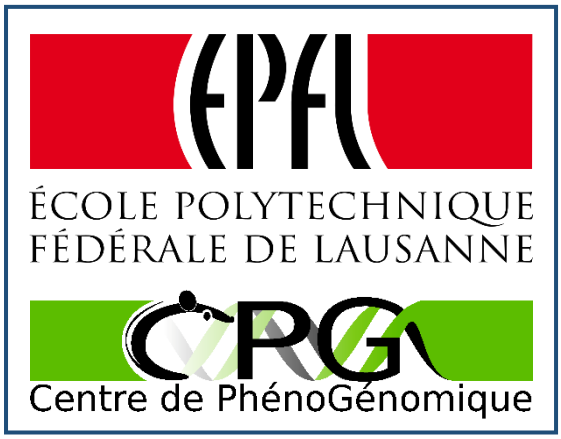


***Figure 19 :*** *Logos de l'EPFL et du CPG*

L'École polytechnique fédérale de Lausanne (EPFL) est une université technique de renommée internationale, spécialisée dans le domaine de la science et de la technologie.

L'EPFL possède sept facultés, elles-mêmes divisées en instituts et laboratoires :

- Faculté des sciences de base (SB) : mathématiques, physique et chimie
- Faculté des Sciences et techniques de l'ingénieur (STI) : génie mécanique, science des matériaux, électronique et microtechniques
- Faculté de l'environnement naturel, architectural et construit (ENAC) : architecture, génie civil, sciences et ingénierie de l'environnement
- Faculté informatique et communications (IC) : informatique et télécommunications
- Collège du management de la technologie (CDM) : management
- Collège des humanités (CDH) : sciences humaines et sociales
- Faculté des sciences de la vie (SV) : sciences de la vie
- Brain Mind Institute (BMI) : étude des mécanismes relatifs au fonctionnement des tissus nerveux, des interactions d'autres tissus et de ses pathologies.
- Institute of Bioengineering (IBI) : développement de technologies à partir et/ou pour améliorer les connaissances en biologie, physique, informatique.
- Global Health Institute (GHI) : contribution à la compréhension, au diagnostic, à la prévention et au traitement de maladies infectieuses.
- Swiss Institute for Experimental Cancer Research (ISREC) : recherche fondamentale sur le développement des cancers.
- Centre de phénogénomique (CPG)

[103] WAROT, « Présentation du CPG »; EPFL, « EPFL | École polytechnique fédérale de Lausanne ».

L'EPFL accueille de nombreuses unités de recherches travaillant dans des secteurs divers, allant des sciences dures (mathématiques, physique) à l'architecture, en passant par le management et la biologie. Les recherches portant sur ce dernier domaine de la biologie sont regroupées au sein de la faculté SV. Elles sont organisées en quatre instituts selon les thématiques abordées et pouvant être amenées à collaborer sur certains projets et d'autres plateformes, comme le CPG.

Le CPG est un centre d'expertise de l'EPFL, et plus particulièrement de la Faculté des Sciences de la Vie, dédié à l'expérimentation animale. Il s'agit d'une plateforme de services qui contribue à faire progresser la recherche en soutenant la communauté scientifique des différents instituts par des services et des conseils constamment adaptés. Il garantit également le bien-être et la santé des animaux de laboratoire, dans le respect des lois et de l'éthique.

À un instant t, entre 30 000 et 40 000 rongeurs sont hébergés à l'EPFL[104] et sont répartis dans 4 principales zones[105] :

- **La SPF :** Il ne s'agit pas d'une zone SPF à proprement parler (Spécifique Pathogen Free) mais d'une zone à statut sanitaire optimisé. En effet, quelques agents biologiques ne devant pas être présents, selon les exigences sanitaires correspondant aux zones SPF, ont été détectés dans cette animalerie. Son fonctionnement est donc compatible avec celui d'une vraie SPF, mais en attendant d'avoir éliminé ces agents, elle ne peut plus être considérée comme telle. Cette animalerie est à accès très réglementé puisque seuls les animaliers et les responsables d'animalerie y ont accès. Les chercheurs ne peuvent y entrer que de manière exceptionnelle et transmettent donc leurs requêtes aux animaliers via PyRAT. Elle sert principalement à entretenir les lignées de souris utilisées, à gérer la reproduction et à héberger les animaux nécessitant des conditions sanitaires optimales (souris immunodéprimées par exemple).
- **La CONV :** Pour « animalerie conventionnelle » est une zone à statut sanitaire classique à laquelle les chercheurs ont accès, en plus des animaliers qui s'occupent des souris au quotidien. Des expériences, chirurgies, de l'imagerie peuvent être menées dans ces locaux. Cette animalerie possède, en outre, une zone à risque biologique plus élevé (P2) dans laquelle sont manipulés les vecteurs viraux (DREADDs[106], transgénèse…), les tissus humains non testés pour les hépatites et le VIH notamment, ou encore d'autres agents pathogènes comme la *Listeria* ou l'hépatite B. Il existe également une zone de transit permettant d'accueillir les animaux à leur réception où lors de leur transfert vers une autre zone ou lorsque l'animal est testé de façon répétée dans un laboratoire.
- **Le CAV :** Pour « Centre d'Application du Vivant » (appellation historique lorsqu'il s'agissait de la seule animalerie de l'EPFL). Cette zone a un rôle similaire à la CONV à quelques détails près. Elle permet d'héberger des rats, avec la présence également d'un P2. La partie dédiée aux souris comprend un P3 ou sont notamment utilisées des souches de tuberculose. Une zone de quarantaine est également présente dans ces locaux et est utile lors d'arrivée d'animaux dont le statut sanitaire d'origine est incertain ou insuffisant.
- **L'UDP :** Pour « Unité De Phénotypage ». Elle ne constitue pas réellement une animalerie, mais est gérée en tant que telle par le pôle vétérinaire car elle héberge des animaux (souris). Il s'agit d'une plateforme technologique de phénotypage intervenant dans de grands domaines d'expertise comme les neurosciences, le cardio-métabolisme ou l'imagerie. Elle possède elle aussi un statut sanitaire conventionnel.

[104] Scionics Computer Innovation, « PyRAT ».
[105] CPG, « Plan des animaleries de l'EPFL ».
[106] ROTH, « DREADDs for Neuroscientists », février 2016.

Le CPG regroupe environ 80 personnes aux compétences diverses et est organisée autour de 2 pôles principaux *(Cf. **Organigramme** en annexes)* : les plateformes technologiques et les activités liées aux animaleries. Le Responsable du CPG supervise directement les plateformes technologiques (comprenant l'UDP et la transgénèse), elles-mêmes dirigées par deux responsables propres. Pour le pôle animalerie, un responsable en second coordonne le fonctionnement des pôles logistique (gérant la laverie, les stocks et les commandes), élevage (comprenant l'animalerie « SPF » et la gestion de PyRAT), expérimentation (gérant notamment la CONV et le CAV) et vétérinaire. Un autre service, responsable des aspects réglementaires liés à l'expérimentation, entretient des liens étroits avec les pôles précédemment cités ainsi que les chercheurs.

Les travaux de transgénèse sont réalisés en majorité en conventionnelle pour les expériences et en SPF pour l'élevage.

Les quatre zones principales sont confrontées au quotidien à des soins d'animaux et sont donc pour cela en relation avec la vétérinaire du CPG. Les animaliers et les techniciens travaillant dans ces zones contactent la vétérinaire lorsqu'ils constatent une anomalie. Cette dernière notifie le cas et propose au chercheur responsable la solution la plus adaptée à l'animal et à l'étude menée. La décision prise est ensuite appliquée, dans la majorité des cas, par l'animalier ou le technicien.

## 1.2. Système existant et transition

### 1.2.1. PyRAT

La gestion des animaleries de l'EPFL fonctionne en grande partie avec PyRAT, qui est un logiciel commercial de gestion d'animalerie[107]. Son accès sécurisé via internet ou intranet permet de faciliter son utilisation.

PyRAT permet de référencer tous les animaux hébergés dans les différentes animaleries. Ainsi, chaque animal possède une fiche résumant toutes les caractéristiques associées à celui-ci.

On peut ainsi notamment y retrouver :

- L'espèce ;
- La souche ;
- La date de naissance ;
- Les parents ainsi que leurs propres fiches
- Le numéro d'animal et le numéro de cage ;
- Le propriétaire du laboratoire de recherche ;
- Le responsable du projet auquel participe l'animal ;
- Le numéro de licence associé au projet
- Les mouvements des animaux avec les dates, source et destination ;
- Les changements de « statut » d'un animal (*exemple :* changement de licence, d'identification, sexage…) ;
- Le décès naturel ou par mise à mort associé à la raison si elle est connue.

***Figure 20 :*** *Logo du logiciel © PyRAT*

[107] Scionics Computer Innovation, « PyRAT ».

Tous ces renseignements sont enregistrés par les animaliers ou les chercheurs selon la zone et la personne qui réalise chaque manipulation. Par exemple, en SPF, la plupart des informations seront saisies par les animaliers du fait de l'accès limité. Dans les autres zones, la plupart des manipulations sont réalisées par les chercheurs qui sont donc responsables de l'actualisation de PyRAT. Ces données permettent un suivi fin et exhaustif des animaux (même une fois décédés) puisqu'elles sont conservées et accessibles en ligne.

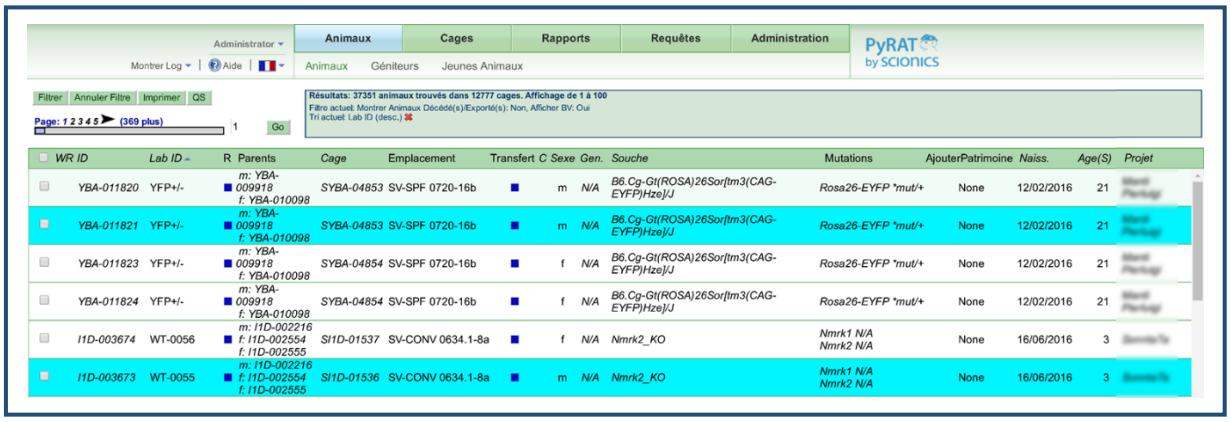


***Figure 21 :*** *Interface de la base de données PyRAT*

Cette base de données est donc indispensable aux animaliers qui gèrent les soins et l'hébergement des rongeurs au quotidien, mais aussi aux chercheurs qui peuvent suivre leurs lignées en temps réel. De plus, l'utilisation de ce logiciel permet également une automatisation de nombre d'opérations. D'un simple clic il est possible à toute personne autorisée d'accéder aux informations relatives à une cage par exemple *(Figure 22)*. Il est possible de modifier la majorité de ces informations très rapidement et d'ajouter des événements relatifs aux animaux (transfert, mise-bas…). D'un simple clic, les animaliers peuvent également générer et imprimer l'étiquette de cage automatiquement.

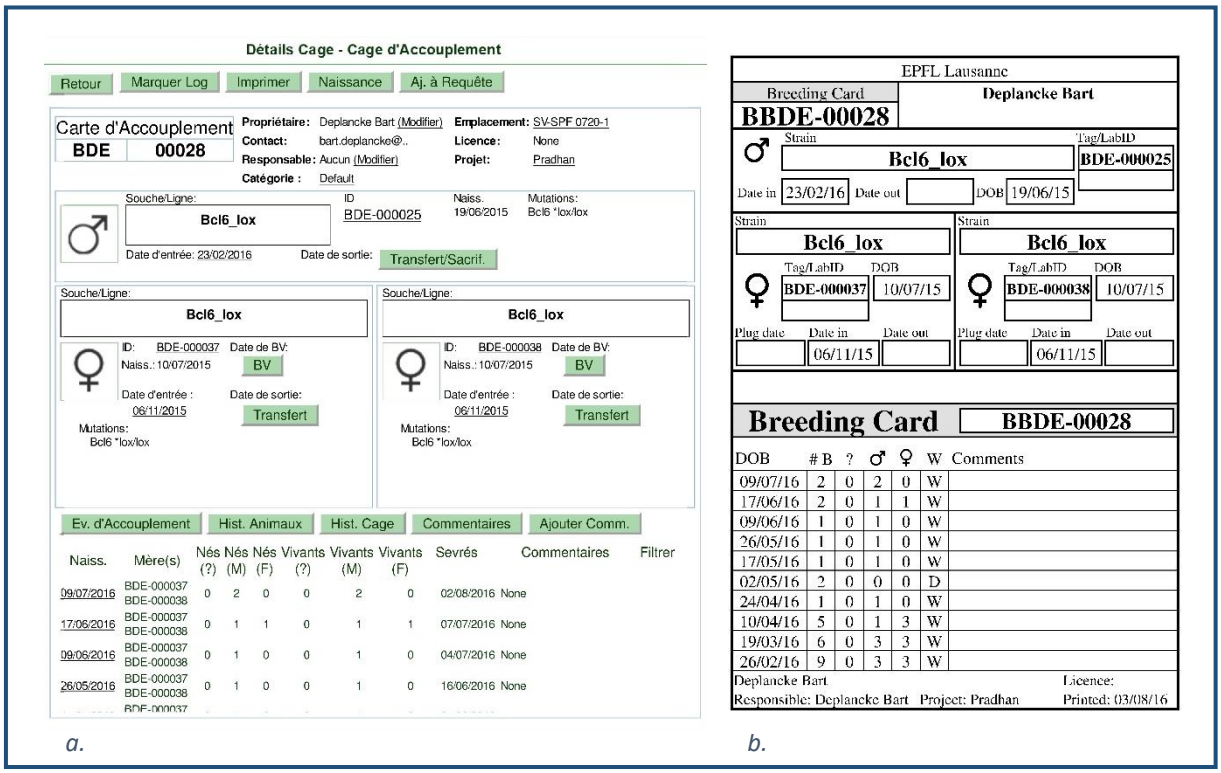


***Figure 22 :*** *Exemple des données concernant une cage dans PyRAT (a) et étiquette correspondante générée (b)*

### 1.2.2. Base de données Excel

Le système de gestion des cas d'animaux malades était initialement relativement différent de celui en vigueur actuellement *(Cf. **Procédure de gestion des animaux malades** en annexes)*. Cette gestion était réalisée par échanges de mails et grâce à un tableau Excel.

Lorsqu'un nouveau cas était constaté par un animalier, il prenait une ou plusieurs photos de l'animal afin de mettre en évidence le problème observé. Il photographiait également l'étiquette figurant sur la cage afin de transmettre le maximum d'informations sur l'animal. Un mail était ensuite rédigé à l'attention de la vétérinaire incluant le numéro de l'animal dans la cage, la description du problème observé et en pièces jointes les photos précédemment évoquées.

À partir des informations transmises et des données associées aux animaux concernés enregistrées dans PyRAT, la vétérinaire prenait ensuite une décision adaptée qu'elle soumettait par mail au chercheur concerné en lui fournissant également les photos du cas.

Le chercheur pouvait ensuite accepter la décision ou émettre des réserves conduisant, si possible, à une nouvelle proposition de la part de la vétérinaire.

Une fois la décision arrêtée, elle était transposée pour être archivée dans un tableau Excel contenant les informations suivantes :

***Tableau 6 :*** *Tableur Excel de recueils des cas d'animaux malades (avant mise en place de CaseTracker)*

| **Numéro de cas** (1) date_zone_salle _N° | **Propriétaire** (2) Responsable du labo | **Chercheur** (3) Chef du projet | **ID Cage** (4) | **ID Animal** (5) | **Sexe** | **Age** | **Lignée** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |

| **Fond génétique** | **License** | **Système** Ex : appareil reproducteur | **Organe** (6) Ex : glande préputiale | **Symptômes** (7) Ex : abcès | **Diagnostic / Étiologie** | **Décision** | **Bilan** Guéri, mort, mis à mort… |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | |
| | | | | | | | |

En cas de décision de mise à mort de l'animal, celle-ci devait être réalisée par le chercheur (sauf dans les zones à accès restreint). Selon l'urgence de la situation, la vétérinaire pouvait prendre l'initiative de mettre à mort l'animal si le propriétaire ne répondait pas. En cas de nécessité de mise en place d'un traitement, une fiche de traitement devait être créée en utilisant un second tableur. La ligne correspondant au nouveau cas devait être copiée dans une zone prévue à cet effet du second tableur et celui-ci générait automatiquement une fiche de traitement adaptée *(Cf. **Fiches de traitement** en annexes)*.

Cette fiche était ensuite transmise par mail à l'animalier concerné afin qu'il mette en place le traitement immédiatement.

L'animalier donnait ensuite des nouvelles à la vétérinaire afin de confirmer si l'animal avait bien été mis à mort ou non, ou bien si le traitement avait fonctionné ou non.

# 2. MISE EN PLACE D'UN OUTIL

## 2.1. Choix d'une stratégie

Avec l'utilisation d'animaux de laboratoire, et notamment d'animaux génétiquement modifiés, le souci du bien-être et de la santé animale est au cœur du fonctionnement des structures d'expérimentation. L'entrée en vigueur d'une nouvelle réglementation concernant la détention et la production d'animaux génétiquement modifiés ou mutants a conduit à une réflexion sur l'amélioration de la gestion des animaleries de l'EPFL. Il a fallu dès lors concevoir le meilleur système possible, avec comme contraintes le respect de la législation ainsi que le réalisme par rapport au mode de fonctionnement de la structure hôte.

### 2.1.1. Étude prospective/Étude rétrospective

#### 2.1.1.1. Définitions[108]

**Étude prospective** : Une étude prospective surveille les résultats, comme le développement d'une maladie, au cours de la période d'étude et met cela en relation avec d'autres facteurs tels que le facteur de risques ou de protections présumés. L'étude implique généralement le suivi d'une cohorte de sujets et leur observation sur une longue période. Les études prospectives ont généralement moins de sources potentielles de biais et de confusion que les études rétrospectives.

**Étude rétrospective** : Une étude rétrospective est tournée vers le passé et examine l'exposition des sujets aux facteurs de risques ou de protections présumés par rapport à un résultat établi dès le début de l'étude. Les erreurs dues à des confusions ou des biais sont plus fréquentes dans les études rétrospectives que dans des études prospectives.

[108] BUCHAN, « Site StatDirect ».

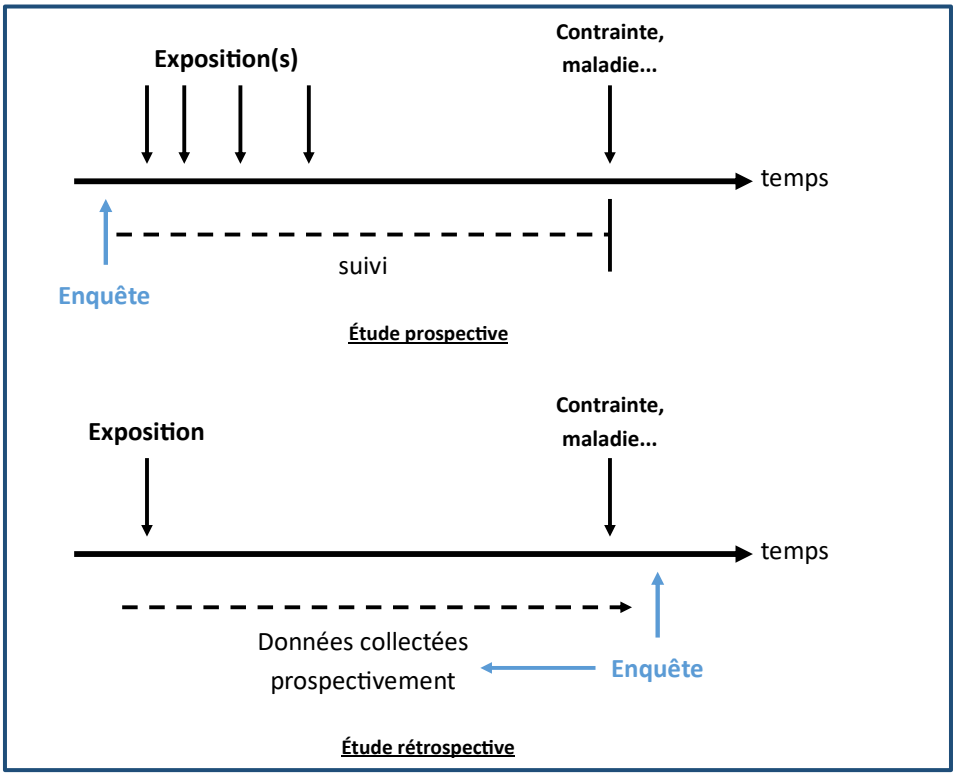


***Figure 23 :*** *Schéma des différences entre études prospective et rétrospective*

2.1.1.2. Avantages / Inconvénients

***Tableau 7 :*** *Avantages et inconvénients des études prospectives et rétrospectives*

| | **Avantages** | **Inconvénients** |
|---|---|---|
| **Études prospectives** | - Exhaustivité<br>- Réactivité face à un problème | - Charge de travail<br>- Quantité de données à traiter |
| **Études rétrospectives** | - Possibilité de se concentrer sur une population donnée<br>- Possibilité d'étudier facilement un paramètre donné | - Risque d'omettre certaines données<br>- Impossible à utiliser comme surveillance |

Le type de surveillance à mettre en place nécessitait à la fois de pouvoir être adapté au fonctionnement du CPG et de répondre à la réglementation concernant la gestion des phénotypes invalidants. Lorsque l'on s'intéresse à la partie réglementaire, on s'aperçoit qu'elle ne précise rien quant à la méthode à privilégier. Cependant, des indices laissent à penser qu'une étude prospective serait préférable[109].

En revanche, l'ancienne gestion de la santé animale par le CPG était plutôt axée sur la rétrospection sur les études où les lignées se démarquaient des autres par une anomalie.

[109] Office fédéral de la sécurité alimentaire et des affaires vétérinaires, *Ordonnance de l'OSAV concernant la détention des animaux d'expérience, la production d'animaux génétiquement modifiés et les méthodes utilisées dans l'expérimentation animale*, sect. 4, art. 14.

Dans le cadre de la prospection, l'avantage principal réside dans la quantité quasi-exhaustive de données récoltées. Malheureusement, cela constitue également son inconvénient majeur. Cela permettrait de récolter toutes les informations nécessaires à la caractérisation de potentiels phénotypes invalidants mais cela générerait également une grande quantité de données non pertinentes mais qui devraient être étudiées quoi qu'il en soit. Le second avantage réside dans la réactivité permise par les études prospectives puisqu'elles sont basées en partie sur une vigilance en temps réel. Le choix de la rétrospection, quant à lui, permet d'être plus spécifique sur une lignée donnée et permet d'éviter la collecte de données inutiles. En revanche, lorsque l'on n'est pas certain de ce que l'on cherche, il est facile d'omettre certains paramètres et d'obtenir un biais dans l'étude réalisée.

### 2.1.2. Choix et transition vers un nouveau système

Devant la complexité de ce processus et l'évolution de la législation concernant notamment les animaux mutants ou génétiquement modifiés susceptibles de présenter des phénotypes invalidants, un nouveau système a été développé. Je trouvais peu judicieux l'idée de mettre en place un système spécifique à la détection et à la gestion des phénotypes invalidants. Après en avoir discuté avec la direction du CPG et la vétérinaire, nous avons préféré le coupler au mode de fonctionnement de gestion de la santé animale déjà en vigueur.

L'outil créé a pour objectif de détecter le plus rapidement possible les contraintes subies par les animaux, qu'elles soient pathologiques ou non, par un suivi constant par les animaliers et le vétérinaire. Cette composante à dominante prospective, est complétée par des fonctions d'archivages et d'analyses statistiques permettant des études rétrospectives à volonté modulables selon les circonstances. Il s'agit d'un logiciel accessible par les utilisateurs via leur navigateur internet facilitant la compilation de données, la communication interne et externe au CPG, le suivi des cas et la vigilance permanente de la santé et du bien-être animal.

***Tableau 8 :*** *Résumé des objectifs de la base de données prévue*

| Objectifs | Moyens pour y parvenir |
|---|---|
| **Simplifier la gestion des animaux malades** | ▪ Interface simple<br>▪ Centralisation pour toutes les actions à mettre en œuvre<br>▪ Réduction du nombre de manipulations à réaliser |
| **Améliorer le bien-être animal** | ▪ En détectant à terme un maximum de phénotypes invalidants<br>▪ En permettant une réaction plus rapide<br>▪ En améliorant la qualité du suivi d'un cas |
| **Garantir une protection des données plus fiable** | ▪ En limitant les échanges de mails entre différents destinataires incluant des photos d'animaux en mauvaise santé ainsi que des informations sur les travaux des différentes équipes de recherche. *(En effet, l'interception de ces données par un tiers pourrait conduire à une utilisation détournée, de manière à causer du tort à l'EPFL ou à ses chercheurs)*<br>▪ En archivant les données automatiquement |
| **Permettre des études rétrospectives** | ▪ Système de recherche et de filtres adapté<br>▪ Outil d'analyse statistique intégré |
| **Permettre un suivi en temps réel** | ▪ Système d'alerte intégré<br>▪ Code couleur permettant de différencier les stades de gestion d'un cas |

Outre les points précédents, le choix de la création d'un logiciel avec également comme intérêt de concevoir un système évolutif permettant de s'adapter à tout éventuel changement réglementaire et bien sûr d'améliorer le fonctionnement de la base de données en elle-même pour optimiser le bien-être animal ainsi que l'expérience des utilisateurs.

Une fois les besoins identifiés, ils furent soumis et validés par D. BANFI, développeur informatique travaillant pour le CPG, qui a par la suite conçu CaseTracker. Les premières versions furent testées par la vétérinaire G. FERRAND et mises en place progressivement dans les animaleries gérées par le CPG. Les différentes équipes reçurent donc une formation par D. BANFI et G. FERRAND puis expérimentèrent le logiciel à tour de rôle.

## 2.2. CaseTracker[110]

***Figure 24 :*** *Prototype de logo CaseTracker*

### 2.2.1. Principe

L'objectif de CaseTracker est de concilier le suivi de santé de la totalité des animaux de l'animalerie et la détection et la caractérisation de phénotypes invalidants sur les lignées murines utilisées, qu'elles soient modifiées génétiquement ou pas. Le logiciel permet la création et le suivi de cas lorsque la moindre anomalie concernant un animal est détectée. Il peut s'agir d'anomalies physique, clinique, ou comportementale traduisant une contrainte pour l'animal. D'autre anomalies, telles que la présence de sang dans la cage, peuvent être détectées.

En outre, la centralisation en une seule interface d'un maximum d'actions à réaliser par les animaliers et le vétérinaire, associée à une protection accrue des données enregistrées et transférées, constituait un objectif secondaire non négligeable.

Une procédure concernant l'utilisation de CaseTracker *(Cf.* ***Procédure de CaseTracker*** *en annexes*) existe et est régulièrement actualisée. Elle est consultable sur le serveur du CPG par l'ensemble des utilisateurs potentiels.

### 2.2.2. Fonctionnement de CaseTracker

#### 2.2.2.1. Interface

Les utilisateurs de CaseTracker se connectent à une adresse d'hébergement grâce à des identifiants personnels auxquels sont associés des droits d'accès à certaines fonctionnalités et aux différentes salles les concernant (Ex : les animaliers de la SPF n'auront accès qu'aux cas d'animaux résidant dans cette même zone).

[110] BANFI, « Base de données CaseTracker ».

L'interface de CaseTracker est celle visible sur la *Figure 25*. Elle montre par défaut l'ensemble des cas actifs de la zone de l'utilisateur (de toutes les zones pour le vétérinaire), triés par ordre chronologique de création. Les informations résumées relatives à chaque cas sont visibles dans différentes colonnes qui peuvent servir de filtres lors de recherches de cas précis.

On y retrouve ainsi :

- Le nom du cas, comprenant la date, la zone et le numéro du cas ;
- La salle hébergeant l'animal concerné ;
- Le numéro de la cage de l'animal concerné ;
- Le nom de l'utilisateur ayant créé le cas ;
- Le propriétaire de l'animal ;
- Le numéro de l'animal concerné (ou des animaux s'ils sont plusieurs ou si l'animal n'a pas été clairement identifié) ;
- La dernière action réalisée sur le cas ;
- Les dates de création et de la dernière modification ;
- Et le statut du cas (actif ou inactif).

Il est à noter que des informations ont été floutées par souci de confidentialité. Il en sera de même pour les autres captures d'écran présentées par la suite.

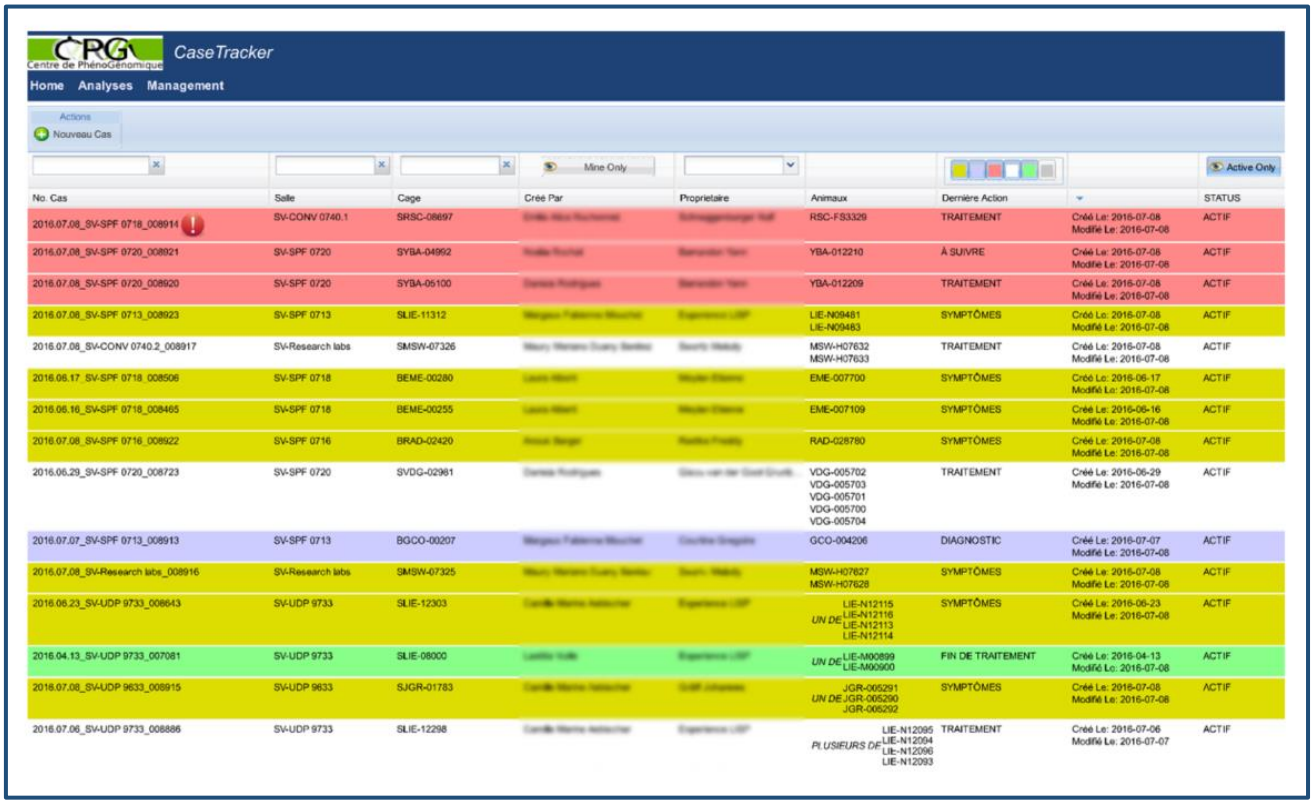


***Figure 25 :*** *Interface de CaseTracker*

Les cas sont également présentés dans différentes couleurs correspondant chacune à un stade différent. Ces couleurs peuvent également être utilisées comme filtres afin de ne visualiser que certains cas (les nouveaux cas par exemple).

| | |
|---|---|
| **Jaune :** | Il s'agit d'un nouveau cas<br>- Soit une contrainte a été observée sur un nouvel animal et un cas a été créé ;<br>- Soit une contrainte existante a empiré et une notification est créée. |
| **Mauve :** | Le diagnostic a été posé, le chercheur a été prévenu du cas et une prise en charge lui a été proposée. |
| **Rouge :** | La prise en charge a été décidée et la directive envoyée à l'animalier (traitement, suivi, euthanasie à réaliser par le chercheur ou par l'animalier). |
| **Blanc :** | Le traitement est lancé. |
| **Vert :** | Le traitement est terminé. L'animal peut être guéri ou nécessite une prolongation, euthanasié ou trouvé mort. |
| **Noir :** | Le cas a été archivé (animal guéri ou mort). |
| **Gris :** | Le cas est noté comme devant être surveillé dans le cas d'une affection bénigne par exemple. |

Ce symbole est utilisé à l'attention des vétérinaires par les animaliers lorsqu'ils jugent que le cas créé est urgent. Il permet une prise en charge plus rapide et permet de réduire plus vite les contraintes subies par les animaux.

L'interface comprend également des onglets *(Figure 26)* donnant accès à certaines fonctionnalités.

En haut à gauche se trouve une icône permettant la création d'un nouveau cas. Au-dessus, on trouve des onglets permettant :

- De revenir à la page d'accueil de visualisation des cas ;
- D'accéder à la partie d'analyse de CaseTracker ;
- De gérer les salles et les droits d'accès, les traitements, les diagnostics, les lignées à phénotypes invalidants, les symptômes ainsi que leurs localisations.

En haut à droite, se trouvent le bouton de déconnexion, ainsi que la possibilité d'imprimer la page et une icône d'aide rappelant la signification du code couleur.

En bas de l'interface se trouvent le numéro de page ainsi que les boutons de navigation entre les pages, et le nombre de cas total.

***Figure 26 :*** *Accès aux différentes fonctions de CaseTracker*

#### 2.2.2.2. Création d'un cas

*Étape 1 : Sélection et identification des animaux concernés*

L'animalier doit compléter le numéro de cage et sélectionner la salle d'hébergement. Ensuite, CaseTracker possède une fonction d'importation des animaux enregistrés sur PyRAT avec les informations correspondantes (directeur du groupe de recherche, responsable du projet, personne de contact, numéros des animaux de la cage).

Il est à noter que lorsque les données ne sont pas à jour dans PyRAT ou que les animaux n'y figurent pas, l'importation automatique n'est pas possible et il est nécessaire de les entrer manuellement.

Une fois les animaux importés, l'animalier peut sélectionner le ou les animaux concernés. Si ceux-ci ne sont pas identifiés, il est possible de tous les sélectionner et d'indiquer que le cas concerne un ou plusieurs de ces animaux.

Les informations sont ensuite vérifiées par l'utilisateur sur l'interface de création du cas *(Figure 27)* et il peut ensuite passer à l'étape 2.

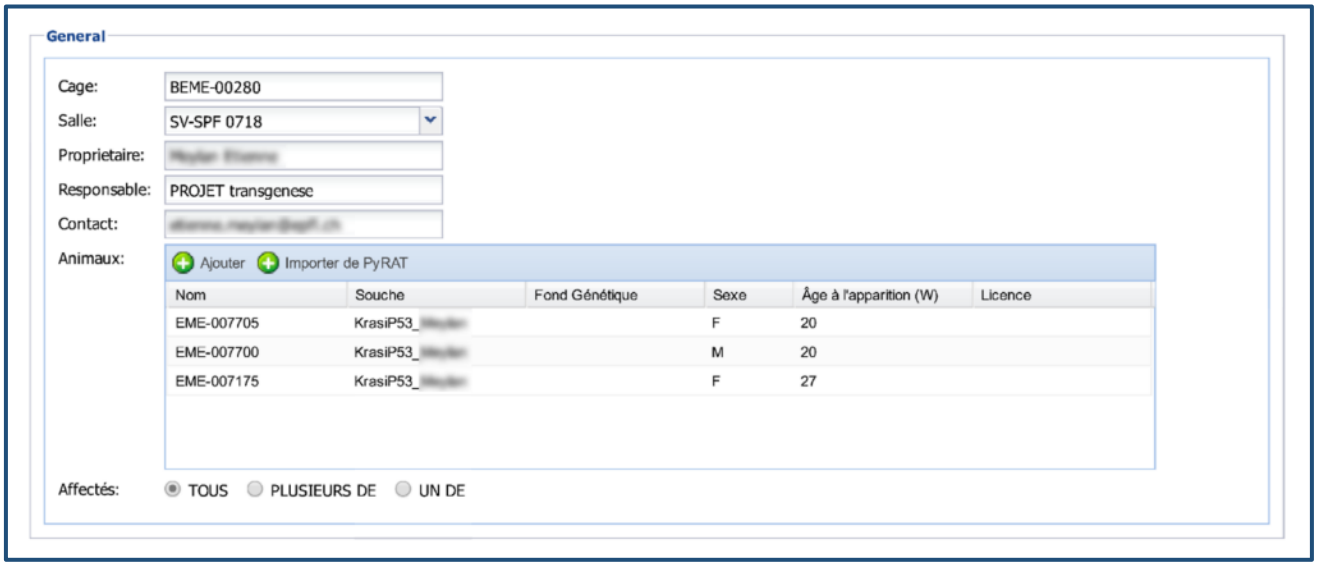


***Figure 27 :*** *Fiche résumé de la sélection des animaux concernés par le cas dans une cage (chaque animal est identifié automatiquement selon le registre établi par PyRAT)*

*Étape 2 : Choix de la contrainte et localisation*

L'étape suivante consiste en la sélection de la contrainte observée parmi une liste existante. A l'heure actuelle, il semble que cette liste suffise à décrire la totalité des symptômes rencontrés. Elle contient l'ensemble des critères réglementaires issus de l'ordonnance de l'Office fédéral de la sécurité alimentaire et des affaires vétérinaires *(Cf. Tableau 13 en annexes)* ainsi que d'autres contraintes complémentaires destinées à couvrir l'ensemble des possibilités concernant les observations de contraintes subies par les animaux.

Dans l'interface de description du cas *(Figure 28)*, il convient en premier lieu de signaler à l'intention des services vétérinaires du CPG s'il s'agit d'un cas urgent ou non. Il est également possible de joindre un commentaire au cas pour apporter des précisions concernant les observations de l'animalier, ou sur l'identification des animaux par exemple.

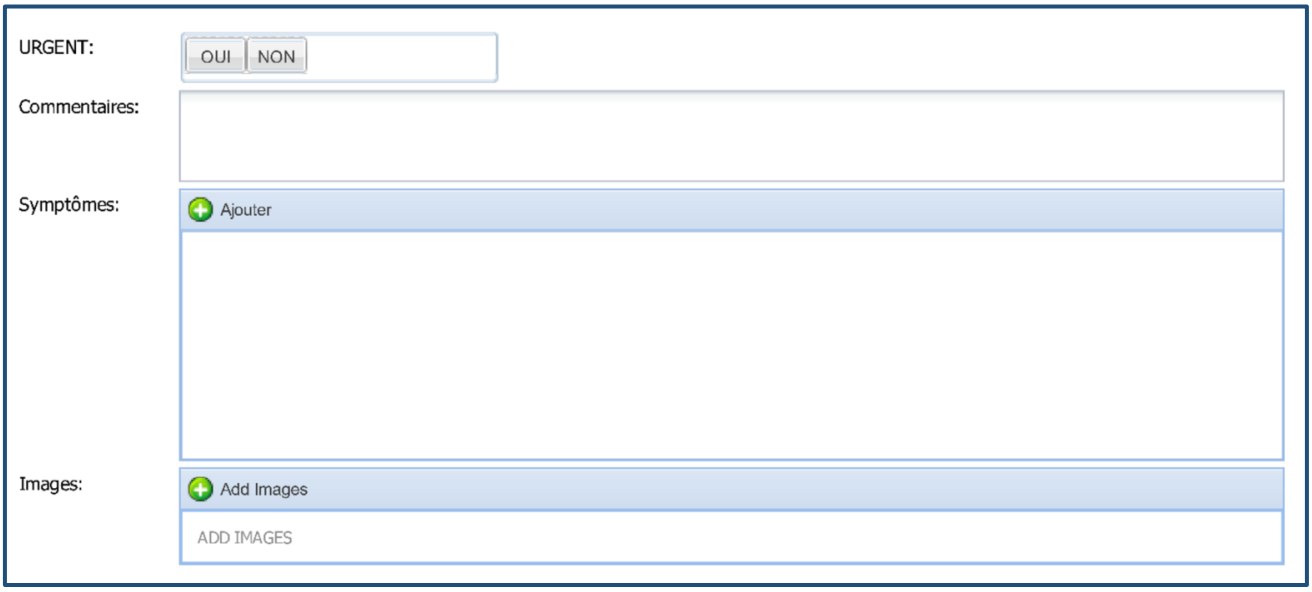


***Figure 28 :*** *interface de description du cas*

Il est ensuite nécessaire de sélectionner la contrainte observée. A la liste, précédemment évoquée, est associé un schéma de rongeur permettant à l'utilisateur de sélectionner la zone atteinte *(Figure 29)*. Lorsque la zone n'est pas identifiée ou que l'atteinte est générale, il est possible de sélectionner l'une ou l'autre de ces possibilités en cliquant sur les cases correspondantes au-dessus des silhouettes de rongeur. Certaines contraintes sont d'ailleurs obligatoirement liées à ces choix (exemple d'un animal apathique).

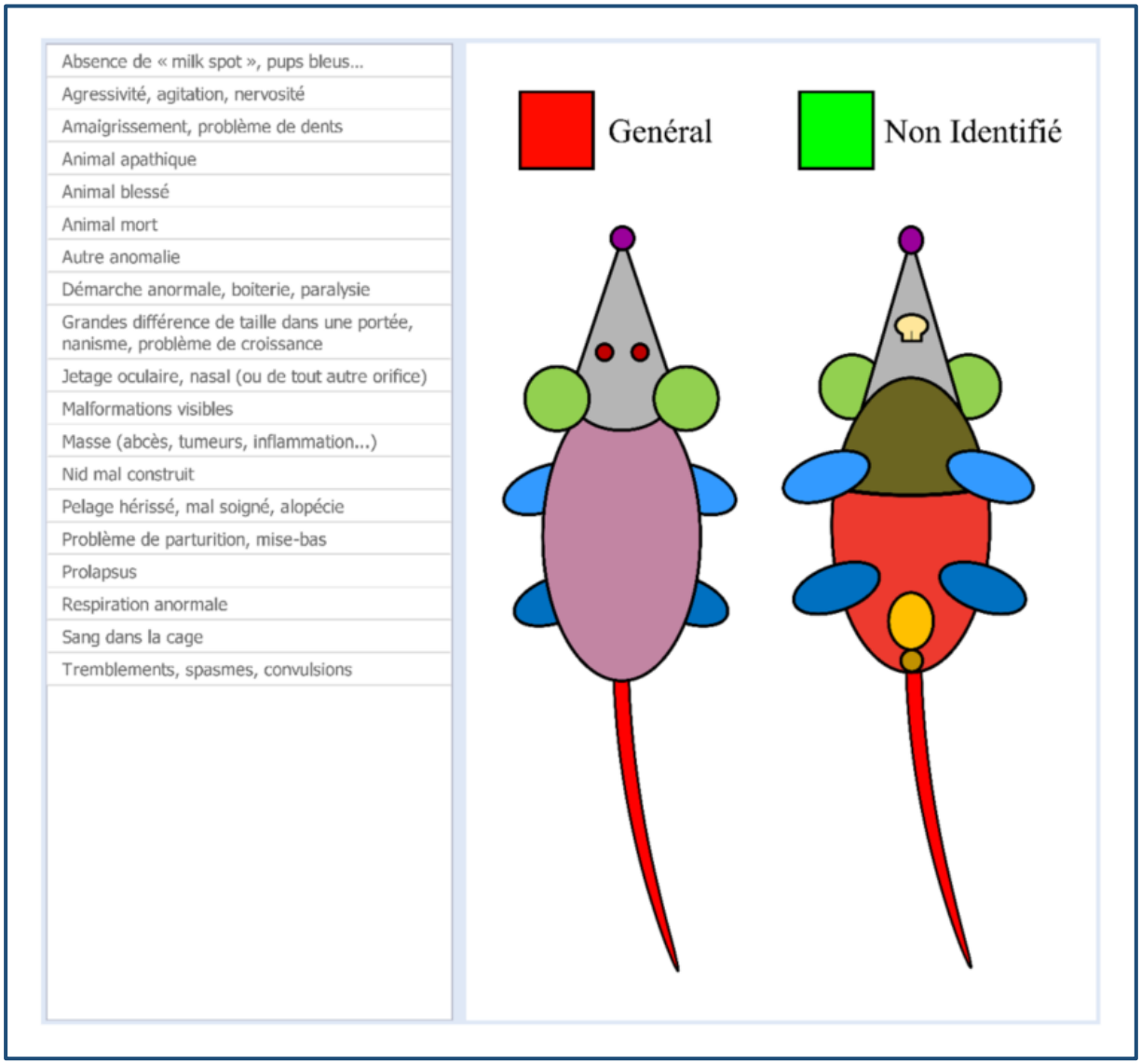


***Figure 29 :*** *Interface de choix des observations, anomalies ou symptômes*

Une fois la contrainte observée sélectionnée, les localisations possibles apparaissent entourées en jaune sur les schémas. Il suffit alors de cliquer sur la ou les localisation(s) désirée(s). Ces zones apparaissent ensuite hachurées.

Enfin, le créateur du cas n'a plus qu'à joindre des photographies. Il s'agit de photos de l'animal et d'une photo de l'étiquette portée par la cage. Cela permet éventuellement d'apporter des précisions concernant les animaux et les symptômes pour le vétérinaire.

L'interface permet de vérifier que toutes les informations ont été complétées et qu'elles sont correctes.

Lorsque toutes ces étapes sont terminées, l'utilisateur n'a plus qu'à valider la création de ce nouveau cas.

#### 2.2.2.3. Prise en charge d'un cas

Une fois la création du cas achevée, celui-ci apparaît dans l'interface principale de CaseTracker. Il apparaît en jaune afin de signaler qu'il s'agit d'un nouveau cas.

Lorsque le vétérinaire ouvre ce nouveau cas, il se trouve sur une interface résumant les principales informations à connaître *(Figure 30)*. La partie supérieure contient les informations des animaux concernés par le cas. La partie inférieure permet d'accéder aux fonctions de gestion du cas et la liste des actions déjà réalisées.

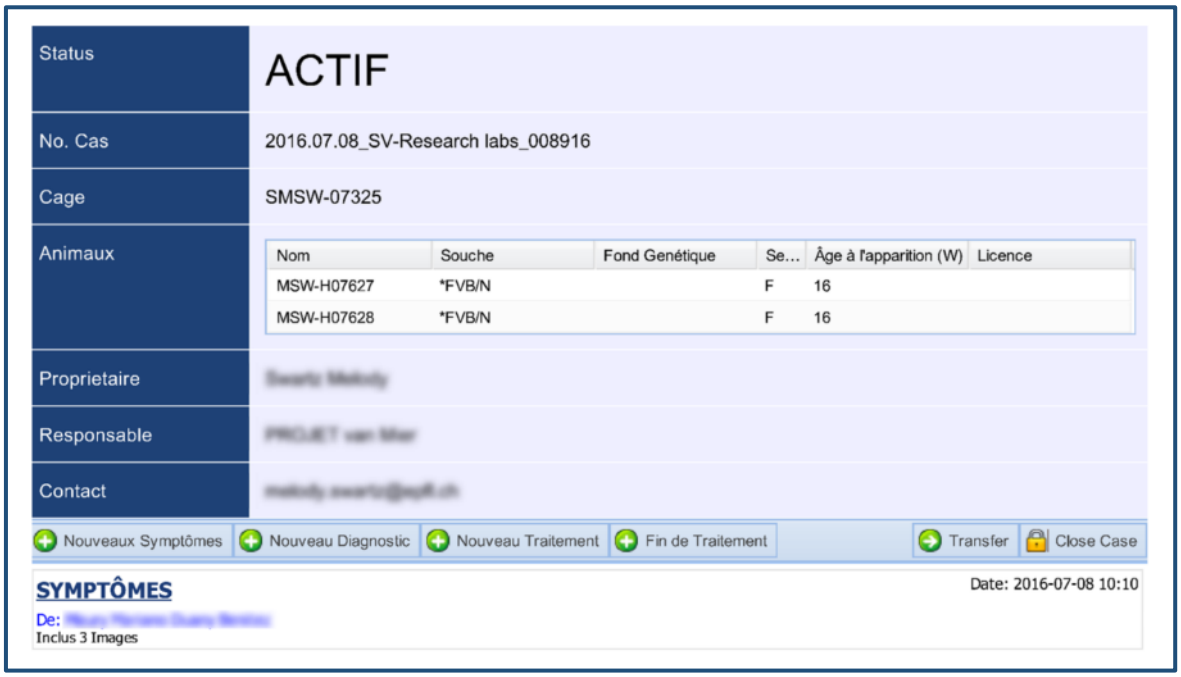


***Figure 30 :*** *Visualisation d'un nouveau cas*

Le vétérinaire ouvre le cas en cliquant sur « SYMPTÔMES » ce qui le conduit à une nouvelle interface *(Figure 31)* sur laquelle il peut visualiser :

- La contrainte constatée ;
- Une miniature de la ou des photo(s) jointe(s) (il est possible pour le vétérinaire de l'agrandir) ;
- Le commentaire laissé par le créateur du cas.

Le vétérinaire peut ensuite marquer le cas comme nouveau. En effet, une fois ouvert, le cas change de couleur et passe en bleu, signifiant qu'il est en attente de la réponse du chercheur. S'il le désire, il peut ainsi attendre avant de prendre une décision sans pour autant prendre le risque de l'oublier.

Le vétérinaire peut également modifier le cas s'il pense qu'il est imprécis ou n'a pas été correctement renseigné.

Enfin, il doit envoyer un message au chercheur concerné pour lui notifier le cas et lui proposer une prise en charge. Dans le message, les numéros des animaux et cages ainsi que des liens vers les photos sont automatiquement joints.

***Figure 31 :*** *Visualisation des syptômes du cas*

Afin de poser un diagnostic, le vétérinaire peut se contenter des photographies et des autres informations renseignées par l'animalier ou bien en chercher de nouvelles auprès des animaliers ou encore des chercheurs, ou en se rendant dans l'animalerie pour examiner l'animal.

Il peut ensuite entrer un nouveau diagnostic dans CaseTracker.

*Étape 1 : Diagnostic*

L'interface propre au choix du diagnostic est pour l'instant très simple *(Figure 32)*. Il suffit de sélectionner parmi une liste le diagnostic établi *(Figure 33)*. On peut également préciser s'il s'agit d'un phénotype invalidant déjà connu ou bien s'il s'agit d'une contrainte d'origine expérimentale. Il est également possible de compléter le diagnostic par un commentaire.

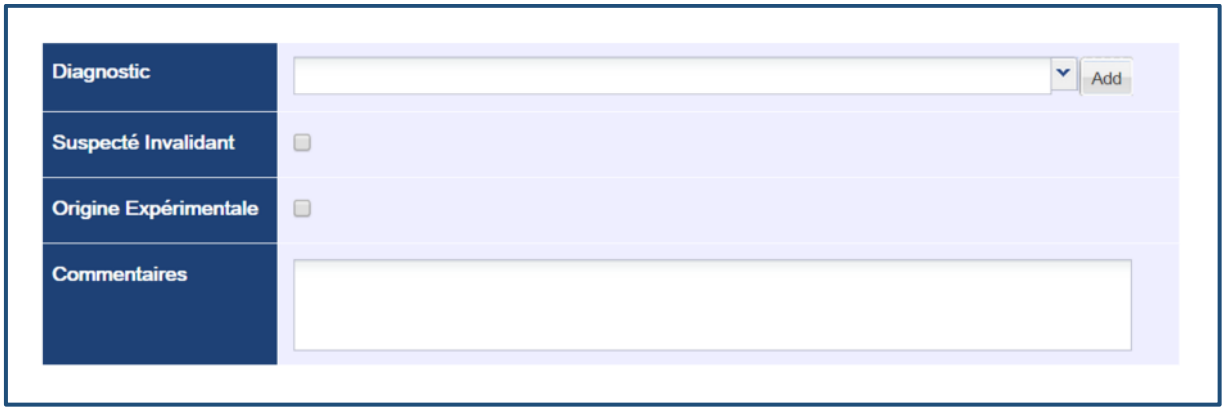


***Figure 32 :*** *Interface de choix d'un diagnostic*

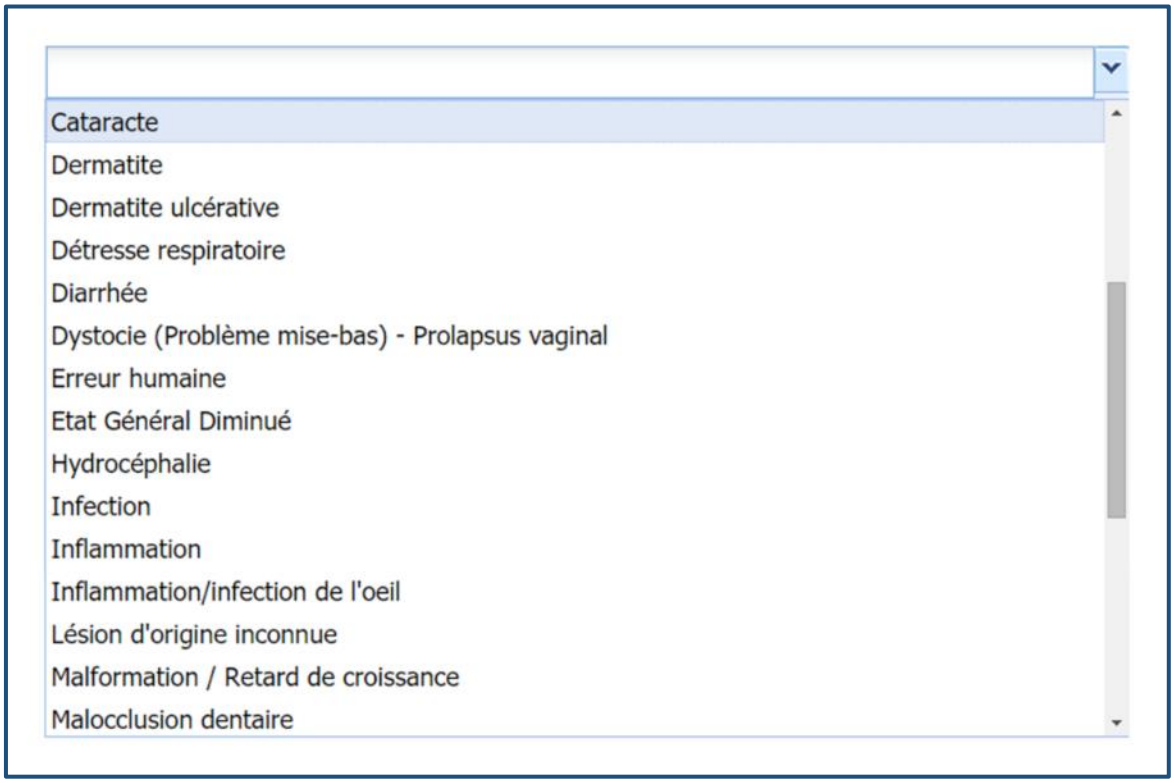


***Figure 33 :*** *Liste des diagnostics rencontrés*

*Étape 2 : Mise en place du traitement*

Une fois le traitement choisi et avec accord du chercheur, il peut être mis en place via une nouvelle fenêtre. Il convient de sélectionner le traitement désiré parmi une liste à droite. La sélection du traitement reporte automatiquement son nom et le protocole associé dans la partie gauche de la fenêtre *(Figure 34)*. Il peut toujours être modifié au besoin par le vétérinaire.

***Figure 34 :*** *Interface de choix du traitement*

Une fiche de traitement à destination de l'animalier est ensuite générée automatiquement et pourra être consultée via CaseTracker *(Cf. **Fiches de traitement** en annexes)*.

L'animalier voit donc les cas changer de couleur et devenir rouges. Cela signifie qu'un traitement a été décidé. Il peut donc accéder à la fiche de traitement qui sera imprimée puis affichée sur la cage afin de signaler la présence de soin et le protocole associé.

#### 2.2.2.4. Contrôle d'un cas

Un traitement est prévu pour une durée donnée. Lorsque cette durée arrive à échéance, ou si le cas n'évolue par ou s'aggrave, l'animalier crée une fin de traitement. Il existe 4 issues possibles à choisir dans une liste, avec possibilité d'y joindre un commentaire *(Figure 35)*.

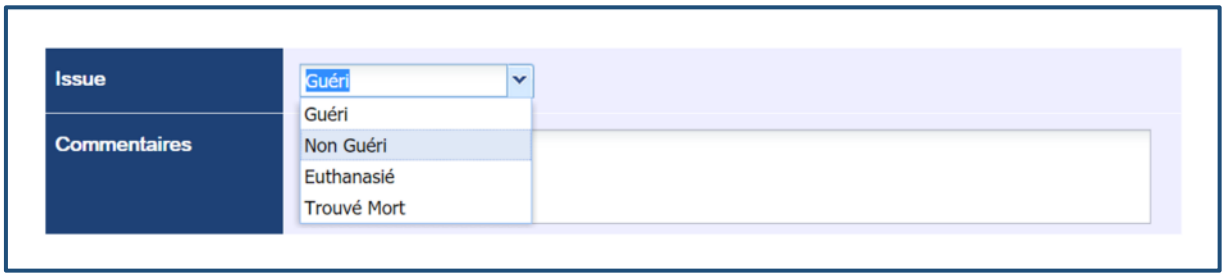


***Figure 35 :*** *Choix de l'issue d'un cas*

L'animal peut donc être :

- **Guéri :** dans cette situation, si aucune autre action n'est nécessaire, le cas est clôturé par le vétérinaire. Il devient noir et disparaît de l'affichage par défaut de CaseTracker.
- **Non guéri :** dans ce cas, il peut être intéressant de prolonger le traitement. Cela conduira à la création d'un nouveau traitement avec génération d'une fiche comme précédemment. Selon l'état et l'affection de l'animal, il peut sembler plus judicieux d'arrêter le traitement et de proposer l'euthanasie.
- **Euthanasié :** c'est le cas lorsque la prise en charge était la mise à mort de l'animal. Cela peut également se produire lorsque l'expérience, à laquelle l'animal participait, s'est terminée ; ou encore si des critères d'interruption ont été atteints.

*Exemple : Les souris présentant des atteintes neuromotrices progressives sont contrôlées quotidiennement par les chercheurs qui sont tenus de les euthanasier si elles mettent plus de 20 secondes à se remettre en position physiologique lorsqu'elles ont été mises volontairement sur le dos.*

- **Trouvé mort :** cette issue peut être due à une affection non maîtrisée par la prise en charge voulue. Auquel cas, cela permettra de réfléchir à une meilleure gestion des prochains cas. Cela peut également être sans rapport avec la contrainte surveillée, lorsque l'animal était âgé par exemple.

#### 2.2.2.5. Autres fonctions

*Fonctions statistiques*

Un onglet permettant l'accès à des fonctions d'analyses statistiques figure dans CaseTracker. Il est relativement simple pour le moment mais présente un potentiel important, du moment que la base de données a accès à toutes les informations nécessaires.

A l'heure actuelle, elle permet de visualiser le nombre de cas, en valeur absolue, correspondant à un diagnostic donné. Ce nombre est représenté sous forme d'un graphique montrant la quantité de cas pour chacune des lignées affectées. On peut également visualiser le nombre de cas par tranche d'âge *(Figure 36)*.

La limite actuelle de cet outil vient principalement du fait que certaines données - notamment sur le nombre d'animaux d'une lignée donnée hébergés à un instant t – ne sont pas accessibles par CaseTracker. Il conviendra également de définir plus précisément les fonctions désirées pour ces analyses.

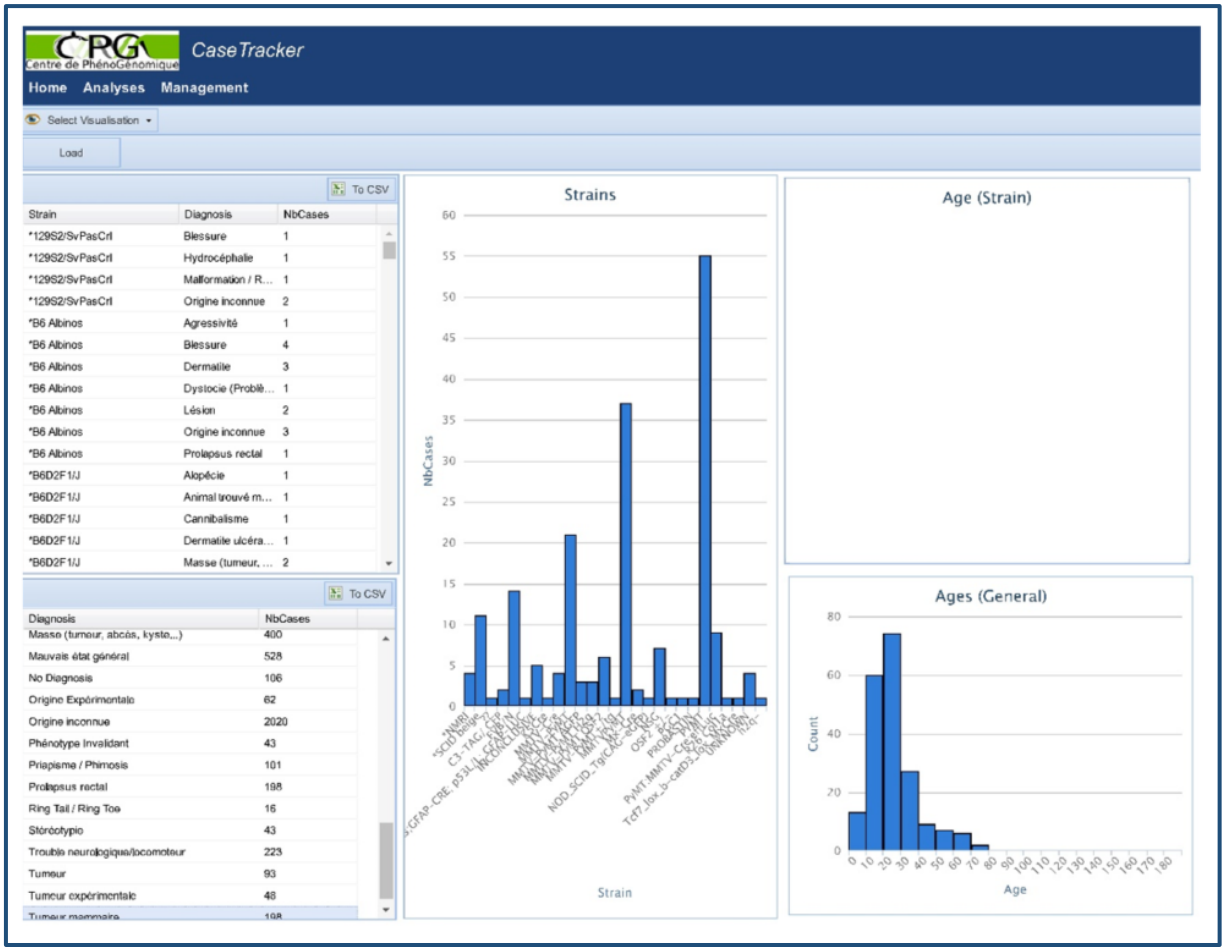


***Figure 36 :*** *Outil d'analyse statistique de CaseTracker*

*Fonctions évolutives*

Enfin, le vétérinaire peut modifier certaines données enregistrées par CaseTracker grâce à l'onglet « management » *(Figure 37)*. Il permet :

- De gérer les salles d'animaleries, d'enregistrer et de distribuer les droits d'accès aux utilisateurs ;
- De gérer les traitements existants et leurs protocoles afin de les modifier ou d'en créer de nouveaux ;
- De modifier les diagnostics enregistrés ;
- De modifier les symptômes enregistrés ainsi que leurs localisations possibles ;
- Et d'enregistrer les symptômes correspondants à des phénotypes invalidants pour une lignée donnée.

***Figure 37 :*** *Gestion de CaseTracker*

## 2.3. Enquête sur l'utilisation par les équipes

***Tableau 9 :*** *Résumé des dates clés de la mise en place de CaseTracker*

| | |
|---|---|
| Été 2014 | Prémices de la création du système CaseTracker |
| Novembre 2014 – Mars 2015 | Développement de CaseTracker par D. BANFI en association avec les responsables du CPG |
| Avril 2015 | Réunion d'information et mise en place de CaseTracker à l'UDP |
| Mai | Réunion d'information et mise en place de CaseTracker en SPF |
| Juin | Réunion d'information et mise en place de CaseTracker au CAV/CONV |
| Juillet 2015 | Soumission d'un premier questionnaire aux animaliers |
| Août 2015 | Recueil des réponses |
| Septembre 2015 – Janvier 2016 | Premières améliorations de CaseTracker |
| Mars 2016 | Soumission d'un second questionnaire aux animaliers |
| Avril 2016 | Recueil des réponses |

Dès la mise en place de CaseTracker, il nous a semblé judicieux d'impliquer les principaux utilisateurs de la base de données dans le processus d'amélioration de celle-ci. Un questionnaire à destination des animaliers a donc été réalisé et diffusé afin de récolter leurs réponses à des questions à choix multiples et des questions à réponses ouvertes.

Elles portaient à la fois sur les informations transmises aux animaliers afin d'optimiser leurs premiers contacts et leur utilisation de CaseTracker, et sur leurs retours sur certains aspects de la base de données.

J'ai conçu et distribué deux questionnaires sur deux périodes différentes *(Figure 67 et Figure 68 en annexes)* :

- Le premier en juillet 2015 a été distribué sur support papier à 33 personnes travaillant dans les 4 animaleries dépendant du CPG (13 en SPF, 8 en CONV, 7 à l'UDP et 5 au CAV).
- Le second en mars 2016 a été diffusé par Google Form à 34 personnes (12 en SPF, 10 en CONV, 6 à l'UDP et 6 au CAV).

J'ai ensuite recueilli et analysé les réponses environ un mois après la distribution.

A la première question, qui était de savoir si les animaliers préféraient le nouveau système CaseTracker à l'ancien, tous ont répondu que oui. Ce premier point nous indique déjà que ce projet a été accueilli positivement par ses utilisateurs.

## 1. Mise en place du nouveau système

Avant la mise en place de CaseTracker, une réunion a été programmée afin d'informer au mieux la totalité des futurs utilisateurs quant à la raison ayant motivé la création du système ainsi que son mode d'emploi.

Le premier questionnaire avait donc pour premier objectif de s'assurer que cette réunion d'information avait été utile.

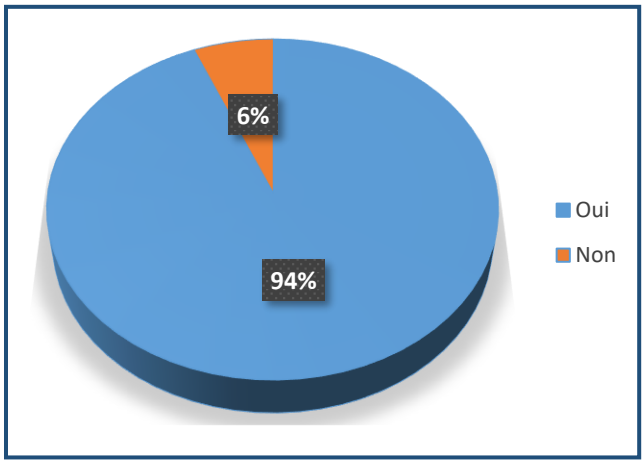


***Figure 38 :*** *Connaissance ou non de la raison de la mise en place de CaseTracker*

A la question *« Savez-vous pour quelles raisons le système CaseTracker a été mis en place ? »*, Seulement 2 personnes ont jugé qu'elles n'avaient pas été suffisamment informées. Cela représente 6 % des votants et l'on peut donc estimer que cette première réunion a été satisfaisante.

### 2.3.1. Formation et accompagnement

Quatre réunions ont été réalisées, une pour chacune des zones. Elles comprenaient une présentation des raisons du changement, suivies d'explications concernant l'utilisation de CaseTracker avec une démonstration vidéo-projetée sur une version d'essai. Les animaliers pouvaient ensuite poser des questions sur le fonctionnement. À la suite de cela, les animaliers ont pu prendre en main une première fois le logiciel et son utilisation quotidienne a commencé immédiatement après.

Suite à ces réunions, G. FERRAND, la vétérinaire, et D. BANFI, créateur du logiciel, ont accompagné les utilisateurs afin de les assister en cas de difficultés d'utilisation. La mise en place a été étalée dans le temps pour les quatre animaleries, ce qui a donc permis d'optimiser l'accompagnement.

Le premier questionnaire servait aussi à juger de la qualité des réunions de formation ainsi que de l'accompagnement des animaliers lors de leurs premières utilisations.

2.3.1.1. Concernant la réunion de formation :

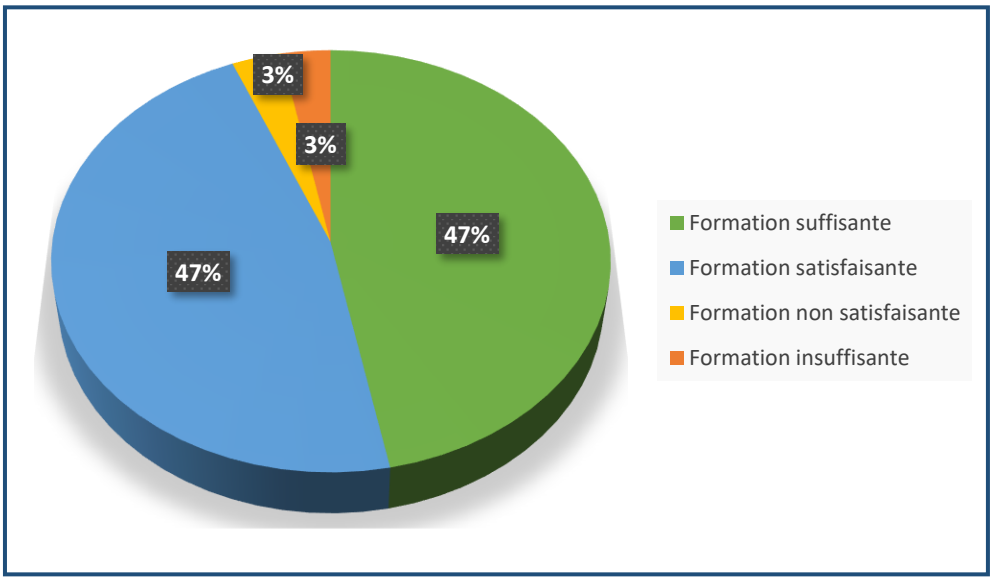


***Figure 39 :*** *Qualité jugée de la formation à l'utilisation de CaseTracker*

A la question *« Estimez-vous que la réunion formation à CaseTracker a été suffisante, satisfaisante, non satisfaisante ou insuffisante ?»*, la grande majorité des animaliers a opté pour des réponses positives avec 96 % de formations satisfaisantes.

2.3.1.2. Concernant l'accompagnement des utilisateurs :

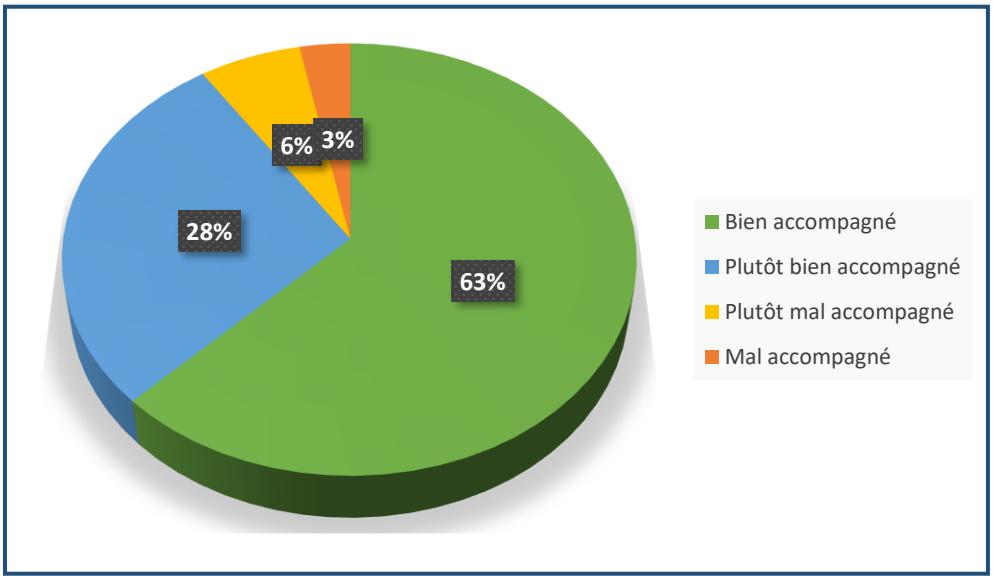


***Figure 40 :*** *Qualité jugée de l'accompagnement lors des premières utilisations de CaseTracker*

A la question *« Jugez-vous que vous avez été suffisamment accompagné lors de la prise en mains de CaseTracker ?»*, la grande majorité des animaliers a opté pour des réponses positives avec 93 % de personnes jugeant avoir été bien ou plutôt bien accompagnées.

2.3.1.3. Bilan :

Concernant ces deux aspects, il semblerait que la prise en main de CaseTracker ait été positive. En revanche, un accompagnement personnalisé a été nécessaire et possible du fait du peu de personnes concernées.

D'autre part, des différences sont également à noter selon les animaleries étudiées *(Figure 69 et Figure 70 en annexes)*. Cela peut être dû au fait que la formation a été séparée en 4 pour pouvoir répondre au maximum de questions mais avec une possibilité de réunions gérées différemment et donc avec plus ou moins une bonne compréhension. De plus, certains membres du personnel au CAV et en CONV ont également des difficultés avec l'utilisation de média numériques et ont dû être plus accompagnés que d'autres.

### 2.3.2. Utilisation

Les questionnaires avaient ensuite pour but d'évaluer la simplicité d'utilisation de CaseTracker.

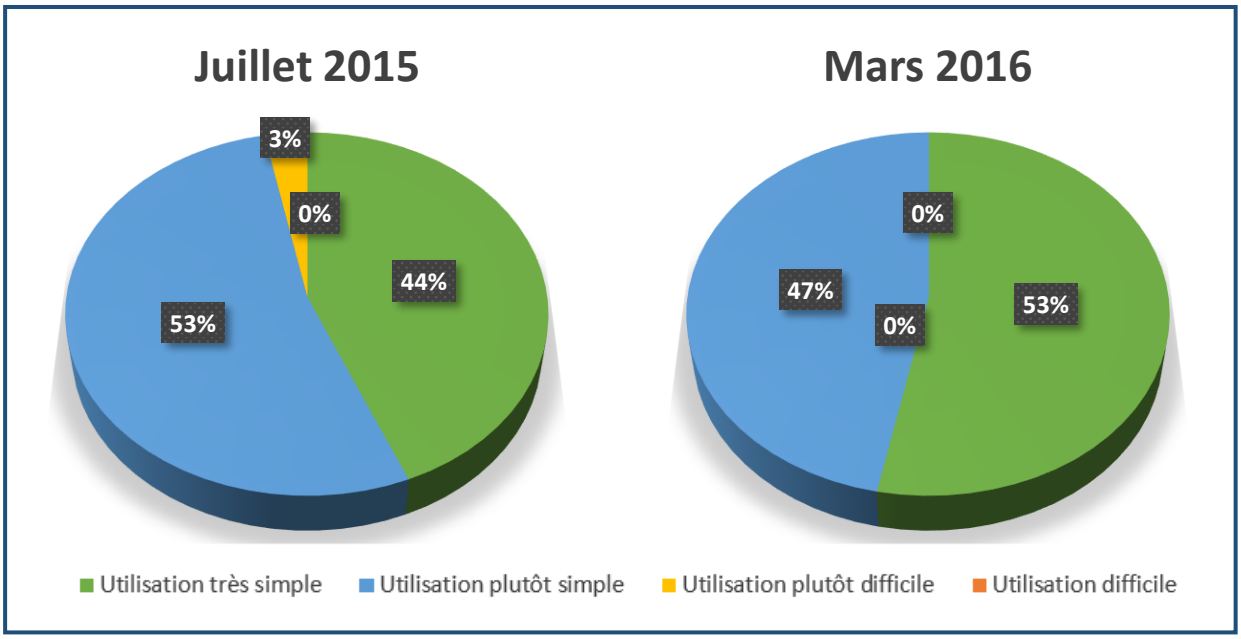


***Figure 41 :*** *Degré de simplicité jugé concernant l'utilisation de CaseTracker*

A la question *« Trouvez-vous l'utilisation de CaseTracker très simple, plutôt simple, plutôt difficile ou difficile ?»*, seule 1 personne (soit 3 % de l'effectif) a jugé l'utilisation plutôt difficile suite à la mise en place de la base de données en juillet 2015. Les autres ont trouvé que l'utilisation était « plutôt simple » à 53 % ou « très simple » à 44 %.

En mars 2016, la totalité des animaliers trouvait l'utilisation de CaseTracker simple avec une fréquence passant de 44 à 53 % pour une utilisation « très simple ».

On peut donc estimer que l'interface de CaseTracker a été suffisamment bien conçue pour être intuitive pour l'utilisateur. De plus, de par l'accompagnement instauré après mise en place du système et une habituation du personnel, l'utilisation de CaseTracker est devenue abordable pour tout le monde 8 mois après le passage à cette nouvelle base de données.

### 2.3.3. Charge de travail

L'une des craintes que nous avions avant la mise en place de CaseTracker était de générer une charge de travail supplémentaire pour les animaliers. Il était donc nécessaire de vérifier cette inquiétude.

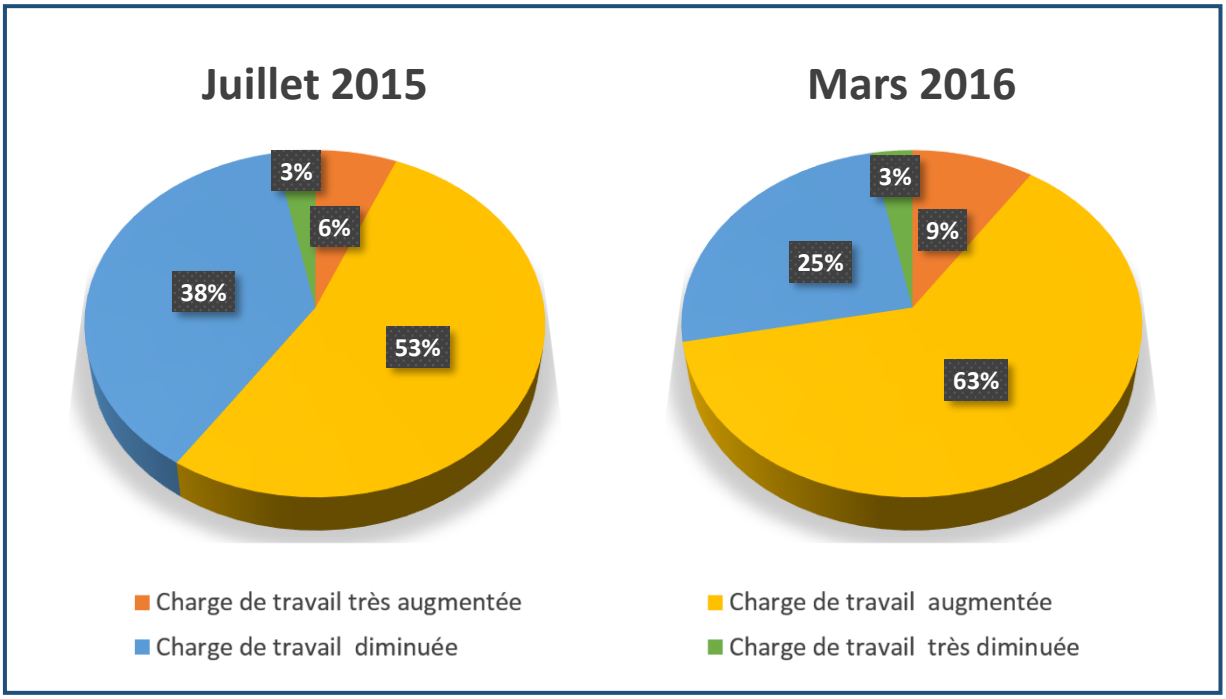


***Figure 42 :*** *Degré de charge de travail supplémentaire suite à la mise en place de CaseTracker*

A la question *« Depuis la mise en place de CaseTracker, estimez-vous que votre charge de travail est très diminuée, diminuée, augmentée ou très augmentée ?»*, la majorité des personnes ont estimé en juillet 2015 que leur charge de travail s'était trouvée « augmentée » voire « très augmentée » suite au passage au système CaseTracker. On aurait pu penser que ce pourcentage de 59 % diminuerait après une période d'habituation, mais cette proportion a augmenté jusqu'à 69 % en mars 2016.

Cette charge de travail élevée peut être expliquée de différentes façons :

- Habituation à CaseTracker ;
- Ajout d'un nouveau logiciel à utiliser quotidiennement ;
- Nombre d'étapes supplémentaires augmenté par rapport au précédent système notamment par la nécessité de documenter d'avantage les cas ;
- Suivi de cas peu détectés ou peu notifiés auparavant (exemple des cas d'alopécie qui auparavant n'entraînaient pas la création systématique d'un nouveau cas).

### 2.3.4. Difficultés

Enfin, afin de mieux cerner les besoins des animaliers, il était nécessaire d'évaluer ceux-ci. Cerner ces enjeux permettra par la suite d'améliorer CaseTracker et d'essayer de réduire la charge de travail pour les animaliers.

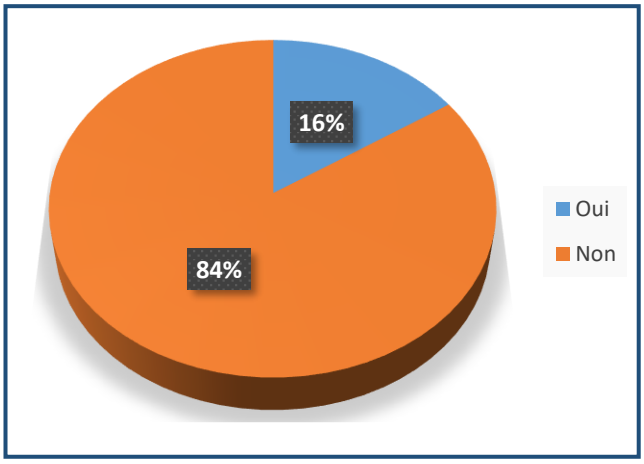


***Figure 43 :*** *Difficultés ou non rencontrées lors de l'utilisation de CaseTracker*

A la question *« Rencontrez-vous encore des difficultés lors de l'utilisation de CaseTracker ?»*, il est intéressant de constater que seuls 16 % des animaliers ont répondu oui. Les sondages de juillet 2015 et de mars 2016 présentaient des résultats similaires.

Les principales difficultés rapportées étaient les suivantes :

- Importation des photos

⇒ Ce problème est lié à des difficultés avec les outils informatiques en général et nécessitent une prise en charge adaptée des personnes concernées.

- Difficultés de lancement de la base de données le lendemain des mises à jour

⇒ En effet, après celles-ci, il est nécessaire de vider le cache du navigateur afin de pouvoir lancer CaseTracker. Cette manipulation a nécessité de montrer au personnel les manœuvres à réaliser. Finalement, les paramètres des navigateurs ont été modifiés afin que le cache se vide automatiquement à chaque démarrage.

- Problèmes pour la prise en charge et le suivi des différentes souris d'une même cage et présentant la même affection.

⇒ En effet, des animaux d'une même cage présentant une même affection sont gérés comme un seul cas dans CaseTracker. Cependant, l'issue peut être différente d'un animal à l'autre.

*Exemple :*

- *Animaux blessés avec des gravités différentes → prises en charges potentiellement différentes (suivi, traitement, mise à mort…) ;*
- *Efficacités des traitements différentes → prolongation de traitement possible pour certains animaux et pas d'autres.*

- Sélection du symptôme adéquat lors de la création d'un cas.

⇒ L'ajout de symptômes nécessaires ainsi que le regroupement de certains est en évolution constante. De plus, la possibilité de sélectionner plusieurs symptômes a été ajoutée.

*<u>Exemple :</u> Lors de blessures liées à de l'agressivité, il peut également y avoir présence de sang dans la cage. Ce critère constitue une contrainte réglementaire qui doit être notifiée également. De plus, si aucune bagarre n'a été constatée, il est difficile d'affirmer avec certitude que ces blessures sont liées à de l'agressivité.*

- Lors de transits entre les différentes zones, les animaux sous traitement arrivaient parfois sans feuille de traitement. De plus, le changement de zone nécessite également un changement virtuel sur PyRAT et sur CaseTracker. Lorsque ces changements sont initiés par les animaliers, l'opération se déroule dans la plupart des cas sans problème. En revanche, lorsqu'il est initié par les chercheurs, la situation est plus compliquée. Ce problème ne pourra être réglé que par une information aux utilisateurs des animaleries.
- Enfin, l'une des principales difficultés qui subsiste concerne les cas où l'animal traité n'est pas dans PyRAT. Il peut s'agir dans certains cas d'erreurs humaines (changement de zone, de cage, mise à mort dans PyRAT…) liées à des mauvaises manipulations de PyRAT. CaseTracker ne peut alors pas importer les animaux qui sont introuvables. Cependant, la majorité de ces cas concerne des animaux qui ne sont même pas répertoriés dans PyRAT. En effet, certains chercheurs refusent d'utiliser cette base de données pour diverses raisons. Cela conduit à des difficultés de gestion dans CaseTracker puisque la totalité des informations liées à un cas doivent être entrées manuellement. De plus, les étiquettes d'identification des cages ne sont pas nécessairement formatées comme les autres et ne fournissent pas toujours les indications nécessaires (lignée, personne de contact…) ce qui complique encore la gestion des animaux malades.

### 2.3.5. <u>Commentaires</u>

Il a ensuite été demandé aux animaliers leur avis sur les aspects positifs ou négatifs de CaseTracker. Avec plus de deux fois plus d'aspects positifs relevés, il est déjà intéressant de noter que le personnel est majoritairement satisfait de ce système.

Voici un résumé des points rapportés classés par fréquence d'apparition.

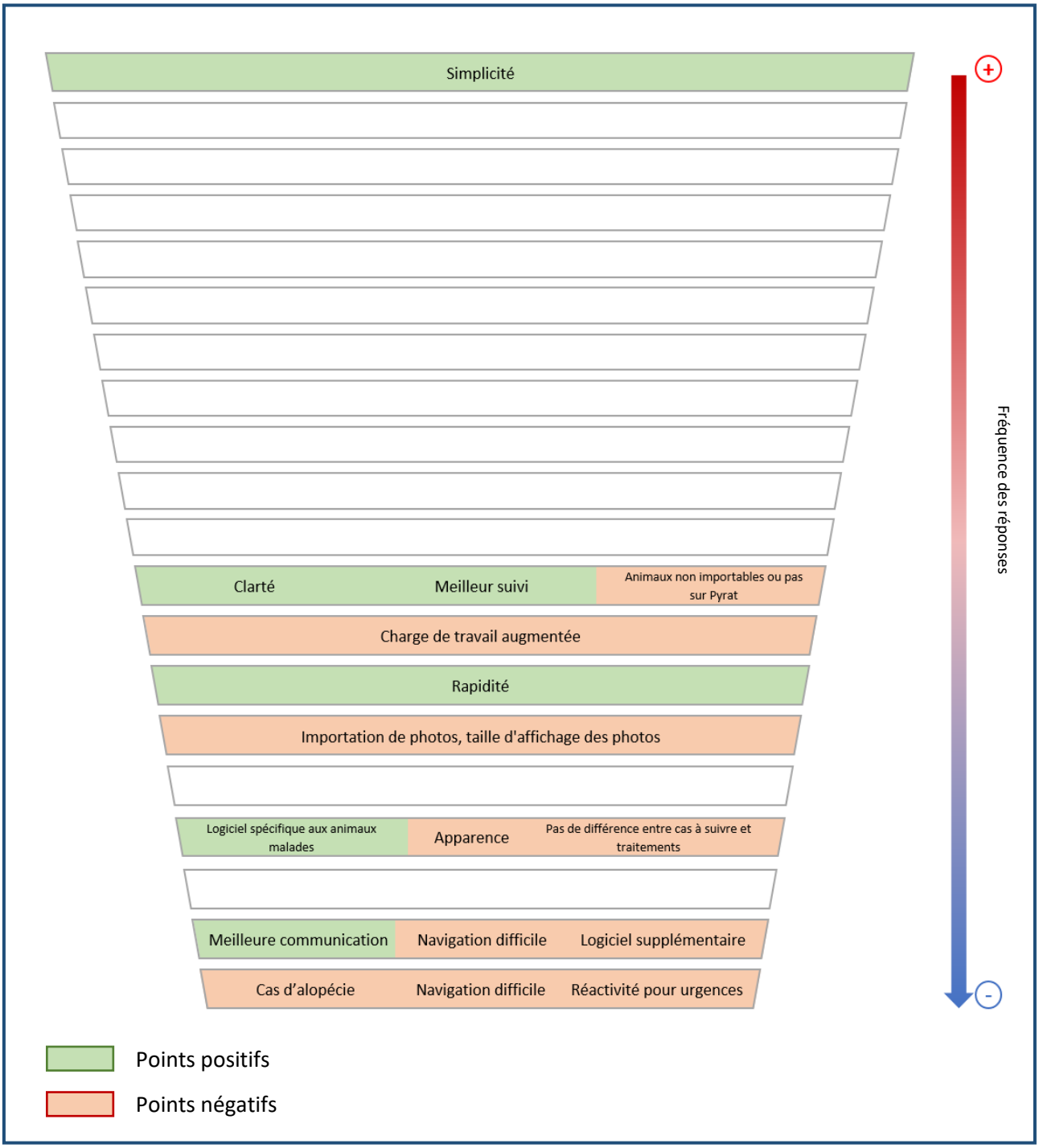


***Figure 44 :*** *Points positifs et négatifs rapportés par les animaliers et classés par ordre décroissant de fréquence*

Le point revenant le plus fréquemment (environ 2 fois plus que les suivants) est celui de la simplicité d'utilisation du logiciel. Que ce soit pour la localisation et la description des symptômes, la navigation ou les recherches d'informations. Les autres points les plus appréciés concernent ensuite la clarté de CaseTracker, notamment au niveau de son interface, et le meilleur suivi des cas permis par les codes couleurs et autres filtres mis en place.

Le principal point négatif relevé par les animaliers concerne les animaux que CaseTracker ne peut pas importer de PyRAT (animaux non répertoriés ou erreurs d'enregistrement dans PyRAT).

En revanche, la rapidité de création d'un cas est appréciée par les utilisateurs même si l'importation de photos reste fastidieuse à la fois par les transferts nécessaires depuis un appareil photo et l'ajout de photo s'effectuant nécessairement une par une. Ce dernier point pourra sans doute être amélioré par la suite. Les animaliers regrettent également que l'agrandissement des photos importées ne soit pas possible. Cette fonction est en effet réservée au service vétérinaire et aux chercheurs concernés par le cas. Le but étant de limiter le risque de fuite d'images d'animaux d'expériences malades. De la même façon, ces photos ne peuvent être ouvertes que par le destinataire de l'email envoyé via CaseTracker par le pôle vétérinaire. Ainsi, un mail transféré à une autre personne ne pourrait pas donner accès aux photos.

Avec une fréquence plus faible, les animaliers déplorent qu'il n'existe pas de différence de code couleur entre les cas à traiter et les cas à suivre. En effet, l'ajout de ce filtre est récent. Il a justement été mis en place après réclamation des animaliers pour répondre à une augmentation de cas par le suivi d'animaux présentant de l'alopécie par exemple, potentiellement liée à certaines lignées, et qui étaient jusqu'à présent peu suivis. Grâce à ce nouveau filtre, les animaliers peuvent différencier les cas à traiter au quotidien des cas moins urgents ne nécessitant qu'une surveillance.

Concernant l'ajout d'un logiciel supplémentaire pour les animaliers, les avis sont partagés. Certains apprécient cette spécificité de logiciel pour la gestion des animaux malades alors qu'auparavant il était nécessaire de passer d'une interface à l'autre (boite mail et PyRAT) et de retrouver les messages concernant les cas d'animaux malades parmi les autres. De plus, les animaliers étaient très sollicités avec le système précédent puisqu'ils étaient destinataires des échanges entre vétérinaire et chercheurs ce qui leur ajoutait une charge supplémentaire à gérer. En revanche, certains trouvent que l'ajout de celle nouvelle interface constitue un point négatif puisqu'il ne dispense pas de l'utilisation de PyRAT ou de leur boîte mail qui reste indispensable dans d'autres situations.

### 2.3.6. Améliorations

En mars 2016, il a été demandé aux animaliers s'ils trouvaient que CaseTracker posait problème dans certaines situations.

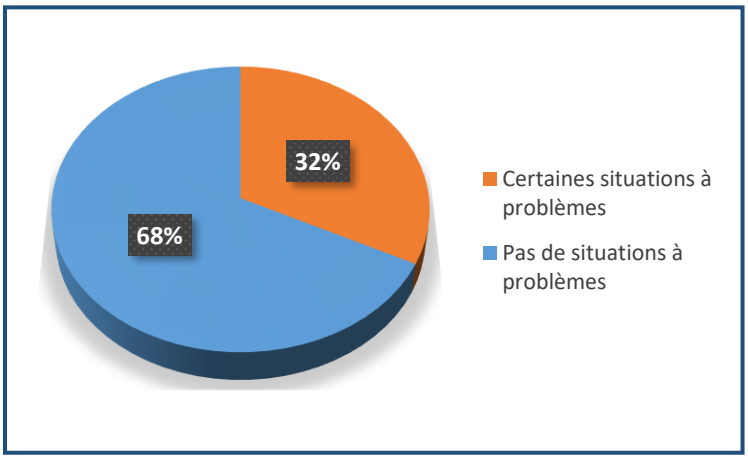


***Figure 45 :*** *Problèmes ou non posés par CaseTracker dans certaines situations.*

À cette question, les animaliers ont répondu à 32 % que certaines situations pouvaient poser problème. Associées à cette demande, des suggestions d'améliorations ont été transmises

On peut par exemple retenir les plus fréquentes, à savoir :

- Plus large choix de contraintes

⇒ Le nombre de contraintes a été établi en fonction des critères réglementaires et complété avec des contraintes manquantes constatées. Il a cependant été limité au maximum afin de faciliter le travail des animaliers. Il semble couvrir la totalité des contraintes potentiellement observables mais sera réévalué afin de conserver un choix optimal. Le fait de créer une liste plus détaillée de contraintes est à double tranchant. En effet, cela permettrait de réduire la fréquence d'ajout de commentaires lors de la création d'un cas pour les animaliers, mais cela risque aussi de compliquer le choix parmi une liste étendue et de conduire à des imprécisions ou des erreurs.

- Signe pour avertir de la présence de commentaires de l'animalier

⇒ Cette amélioration serait judicieuse. En effet, parmi la quantité quotidienne importante de cas à gérer, certains commentaires peuvent ne pas être vus par le vétérinaire. Un symbole indiquant la présence d'un commentaire pourrait palier ces omissions.

- Heure de création du cas visible

⇒ Cette amélioration a été apportée à CaseTracker. Notamment pour connaître avec précision le moment de notification des cas urgents nécessitant une réponse des chercheurs. Cette amélioration permet d'optimiser la prise en charge et de ne pas laisser les animaux souffrir inutilement.

- Modification automatique dans PyRAT pour les animaux morts

⇒ Lorsqu'un animal est trouvé mort ou euthanasié, il convient aux animaliers de modifier le statut virtuel de ceux-ci dans PyRAT. Une automatisation de ce processus serait intéressant afin que l'enregistrement de l'issue d'un tel cas dans CaseTracker entraîne une actualisation du statut PyRAT. Cependant, les accords passés avec les développeurs de PyRAT empêchent les modifications par un logiciel comme CaseTracker.

- Possibilité d'ajout de photos lors des fins de traitement

⇒ A l'heure actuelle, un traitement terminé nécessite d'utiliser la fonction « fin de traitement » pour notifier l'issue du cas par un statut (« guéri », « non guéri », « euthanasié » ou « trouvé mort ») et éventuellement d'y ajouter un commentaire. Or, un animal non guéri ne sera pas traité de la même façon selon l'état de l'affection au moment de la fin de traitement. Ainsi, la possibilité d'ajout de photo dans cet onglet pourrait être utile et faire gagner du temps aux animaliers et au vétérinaire.

- Format spécial pour les fiches suivis

⇒ De la même façon que les cas d'animaux traités et d'animaux sous surveillance ont été différenciés par un filtre sur CaseTracker, des fiches différentes ont été mise en place sur les cages concernées *(Cf. **Fiches de traitement** en annexes)*.

Enfin, deux dernières questions ont été posées concernant les améliorations de CaseTracker déjà réalisées, et son utilité quant à l'amélioration du bien-être animal.

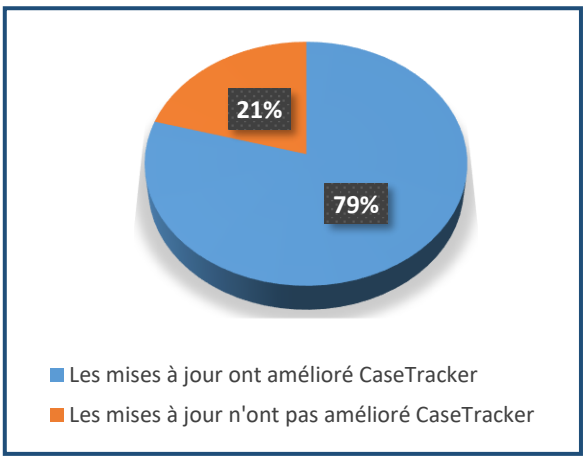


***Figure 46** : Mises à jour de CaseTracker jugées utiles ou non*

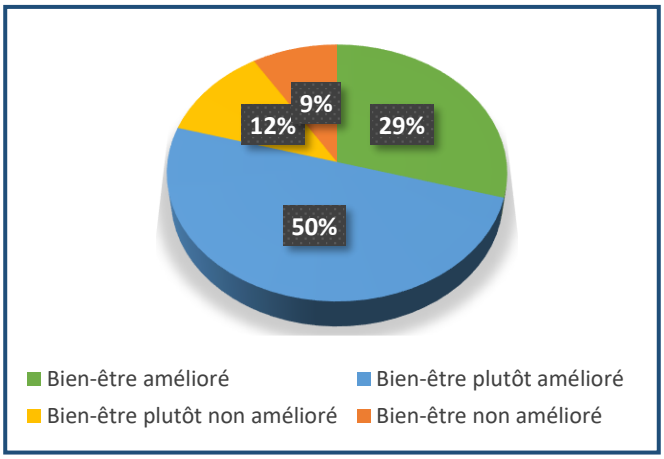


***Figure 47 :** Bien-être des animaux jugé amélioré ou non par la mise en place de CaseTracker*

A la question *« Selon vous, les mises à jour de CaseTracker ont-elles amélioré son fonctionnement ? »*, près de 80 % des animaliers jugent que oui.

A la question *« Pensez-vous que CaseTracker améliore le bien-être des animaux en détectant plus tôt des problèmes et en agissant plus rapidement ?»*, près de 80 % des animaliers pensent que CaseTracker a un effet positif sur le bien-être animal.

Le bilan est donc positif, tant sur le ressenti quant à l'utilité de CaseTracker, que sur les améliorations mises en place. Cela semble indiquer que notre démarche est efficace et bien perçue par la majorité des utilisateurs. Cependant, 20 % d'avis plus mitigés voire négatifs n'est pas un pourcentage négligeable. Une réunion bilan devrait être réalisée afin de s'assurer que les objectifs et le contexte de CaseTracker ont été bien expliqués aux animaliers et d'essayer de poursuivre les perfectionnements de la base de données.

## 2.4. Documentation papier

Le projet incluant CaseTracker prévoyait initialement d'y adjoindre des formulaires papier présents dans toutes les salles des animaleries *(Cf. **Documentation papier** en annexes)*. Le but était de répondre à la réglementation en vigueur exigeant une démarche proactive avec des fréquences strictes de contrôle des animaux[111]. La documentation conçue permettait alors que tous animaliers notifient chacune des vérifications afin qu'il soit possible à n'importe quel moment de faire un état des lieux des contrôles des animaux.

Le choix a été fait de mettre en place CaseTracker prioritairement. Le fait est que cette base de données constitue déjà une charge de travail supplémentaire pour les animaliers. Ajouter l'obligation de remplir de manière exhaustive une documentation adaptée au quotidien ne nous semblait pas réalisable et n'aurait eu qu'un intérêt limité de par la masse de données supplémentaire à traiter et le peu d'informations utiles à en tirer.

[111] Office fédéral de la sécurité alimentaire et des affaires vétérinaires, *Ordonnance de l'OSAV concernant la détention des animaux d'expérience, la production d'animaux génétiquement modifiés et les méthodes utilisées dans l'expérimentation animale*, sect 4, art. 12 et 14.

D'autre part, les fréquences intensives de contrôle nous paraissaient aller à l'encontre de l'esprit initial des lois de protection animale. Ainsi, contrôler tous les nouveau-nés 5 jours après la mise bas et tous les autres animaux plusieurs fois par semaine risquerait d'aller à l'encontre du bien-être animal voire d'engendrer une mortalité accrue[112]. La législation impose un simple contrôle visuel des nouveau-nés, mais il est impossible de les contrôler sans sortir la cage de son emplacement et donc de soumettre les petits et leur mère à un stress. D'autre part, une simple observation à travers les parois de la cage ne permettra certainement pas ce contrôle. En effet, les nouveau-nés sont pour la plupart cachés dans leur nid et leur contrôle individuel impliquerait leur manipulation et la destruction partielle du nid. Il conviendra donc de discuter avec les autorités de la meilleure conduite à tenir concernant ce point de contrôle.

Enfin, la quantité de documents générés à l'année constituerait une charge de travail supplémentaire pour le CPG et serait difficilement contrôlée par les autorités. À titre indicatif, si l'on considère qu'il faut 1 exemplaire de chacun des formulaires en annexes *(Cf.* ***Documentation papier****)* par semaine et par salle, cela représenterait près de 5 000 formulaires papiers par an en admettant qu'ils soient à l'échelle d'une salle à chaque fois. Or, l'un des formulaires conçus devait être utilisé à l'échelle du rack car ceux-ci ne sont pas tous contrôlés au même moment. Dans ce cas, le nombre de documents à traiter à l'année serait de quasiment 20 000. Cela pose de nouvelles questions concernant leur archivage ainsi que le bénéfice pour le CPG et les autorités. La possibilité de créer ces documents de contrôle sous format numérique aurait le mérite de ne pas devoir utiliser et stocker des supports physiques, mais concernerait une quantité de données à traiter et une charge de travail identiques. Il sera donc là encore nécessaire d'évaluer avec les autorités si le système actuellement mis en place est suffisant à leurs yeux ou si d'autres mesures devront être mises en place.

[112] WEBER et OLSSON, « Maternal Behaviour in Mus Musculus Sp.: An Ethological Review ».

# 3. INTÉGRATION DE CASETRACKER DANS LE FONCTIONNEMENT DE L'ANIMALERIE ET LA ZOOTECHNIE

## 3.1. Respect de l'obligation réglementaire de déclaration des lignées à phénotype invalidant

L'observation de contraintes sur une lignée utilisée nécessite systématiquement de remplir un formulaire réglementaire *(Cf. **Formulaire M** en annexes)*[113]. Ce formulaire résume les informations de base concernant la lignée, le lieu d'hébergement, le directeur d'expérience et l'annonce (provisoire ou définitive) en elle-même et les plans de contrôle mis en place.

Afin d'apporter des précisions à cette déclaration, il convient ensuite de la soumettre aux autorités grâce à un deuxième formulaire, prévu à cet effet *(Cf. **Fiche technique AGM** en annexes)* à joindre au précédent[114]. Il permet de détailler les informations concernant la lignée déclarée (espèce, nom, modifications génétiques, production…) et de résumer la caractérisation de la contrainte (stade d'évaluation, phénotype, atténuation, critères d'euthanasie). Cette fiche technique est transmise aux autorités cantonales qui évalueront si les conditions d'élevage et d'expérimentation proposées sont éthiquement et réglementairement satisfaisantes et s'il s'agit ou non d'un phénotype invalidant.

Enfin, à la fin de chaque année, les structures hébergeant des animaux de laboratoire doivent transmettre de nombreuses informations dans un troisième formulaire *(Cf. **Formulaire CH** en annexes)*, dont celles concernant les lignées présentant potentiellement des phénotypes invalidants[115].

## 3.2. Mesures préventives et curatives dans le cas de lignée à phénotype invalidant

Lorsqu'une contrainte est observée, il est nécessaire de prévoir des mesures de réduction des contraintes. Selon les caractéristiques de la contrainte, il existe différents moyens pouvant être mis en place :

- Il est possible tout simplement de ne pas utiliser cette lignée. C'est le cas de lignées dont le phénotype invalidant n'est pas souhaité par le type d'études les utilisant. Un phénotype non désiré pourrait d'ailleurs être plus dommageable que bénéfique à une recherche, en plus des conséquences potentielles pour la santé et le bien-être de l'animal.
- Lorsqu'il s'agit d'un phénotype d'apparition tardive, il est possible de mettre à mort les animaux avant l'apparition de celui-ci. Cette méthode ne peut pas être utilisée lorsque les études nécessitent l'apparition de ce phénotype. En revanche, lors de l'entretien de la lignée en dehors des phases expérimentales, l'apparition de ce phénotype n'est pas souhaitable et une mise à mort précoce est possible. On peut ainsi citer la lignée *Tg(SOD1*G37R)1Dwc/J*, utilisée dans le cadre de l'étude de la sclérose latérale amyotrophique. Ces animaux présentent des pertes de neurones moteurs entraînant une myopathie progressive sévère. Les symptômes apparaissant à partir de l'âge de 200 jours, la reproduction et l'entretien de la lignée ne posent aucun problème car elle ne nécessite pas l'utilisation de d'animaux après cette limite d'âge.

---

[113] Assemblée fédérale de la Confédération suisse, *Loi fédérale sur la protection des animaux (LPA)*; Conseil fédéral suisse, *Ordonnance sur la protection des animaux (OPAn)*; Office fédéral de la sécurité alimentaire et des affaires vétérinaires, *Ordonnance de l'OSAV concernant la détention des animaux d'expérience, la production d'animaux génétiquement modifiés et les méthodes utilisées dans l'expérimentation animale*.

[114] Office fédéral de la sécurité alimentaire et des affaires vétérinaires, *Ordonnance de l'OSAV concernant la détention des animaux d'expérience, la production d'animaux génétiquement modifiés et les méthodes utilisées dans l'expérimentation animale*, art 23 et 28.

[115] Conseil fédéral suisse, *Ordonnance sur la protection des animaux (OPAn)*; Office fédéral de la sécurité alimentaire et des affaires vétérinaires, *Ordonnance de l'OSAV concernant la détention des animaux d'expérience, la production d'animaux génétiquement modifiés et les méthodes utilisées dans l'expérimentation animale*.

- Lors de l'entretien de lignées à phénotypes invalidants, il est également possible d'appliquer des méthodes de sélection lors de la reproduction. Par exemple, lorsque le phénotype n'est présent que chez des animaux homozygotes pour le gène d'intérêt, le maintien de la lignée uniquement grâce à des animaux hétérozygotes qui, eux, ne présenteront pas le phénotype non désiré. Cette technique nécessite cependant de connaître suffisamment le lien entre le phénotype étudié et le génotype de l'animal.
- Il est également possible de mettre en place des mesures de lutte directe contre la contrainte. C'est le cas des souris de la lignée *Rip1-Tag2 POSTN-/- (OSF2KO)*. Ces souris, utilisées dans le cadre d'étude du cancer du pancréas, développent spontanément des insulinomes. Ces souris sont donc en constante hypoglycémie à partir de l'âge de 12 semaines. Afin de maintenir la glycémie à des valeurs physiologiques, les animaux sont nourris avec un aliment enrichi en saccharose.
- Il est souvent nécessaire de mettre en place des critères d'interruption de l'expérience. Ces critères peuvent être réglementaires ou choisis par le chercheur. Les lignées *MMTV_PyMT* développent des tumeurs mammaires et sont utilisées dans des études du cancer du sein. Elles sont soumises à des règles strictes puisque la taille des tumeurs ne doit pas dépasser un total de 1 $cm^3$ et elles ne doivent pas être ulcérées selon décision du vétérinaire cantonal.
- Enfin, l'idée de la possibilité de générer automatiquement des formulaires réglementaires complétés à partir de CaseTracker est intéressante et sera examinée par la suite.

## 3.3. Exemple

Les capacités statistiques de CaseTracker étant pour le moment limitées, il est difficile à l'heure actuelle de détecter un phénotype invalidant inconnu jusqu'à présent. Il est cependant possible d'étudier les données de CaseTracker afin d'étudier un phénotype déjà connu et déclaré.

### 3.3.1. Déclaration des *Tg(SOD1*G37R)1Dwc/J*

Le phénotype invalidant lié à cette lignée est connu car elle existe depuis quelques années déjà[116] et ses caractéristiques sont détaillées sur le site du Jackson Laboratory[117]. Ces connaissances internationales nécessitaient tout de même de déclarer la lignée comme présentant un phénotype invalidant ainsi que les mesures à prendre pour réduire la contrainte pour ces animaux.

Le formulaire M et la fiche technique AGM sont remplis avec les informations suivantes :

- **Adresses et contacts** (chapitres A à C du *Formulaire M* et de la *Fiche technique AGM*) : autorité cantonale, directeur de l'expérience utilisant ces animaux, structure d'hébergement.
- **Annonce** (chapitre D) :
- Type d'annonce : il s'agissait ici d'une annonce définitive, le phénotype étant déjà connu. Cela signifie qu'une investigation de la lignée a permis d'établir avec certitude qu'elle présente un phénotype invalidant. Cela a pu être établi dès la création de la lignée, ou bien par une étude portant sur 3 générations et 100 animaux.
- Information scientifique de base :
- Modification génétique : il s'agit d'une lignée transgénique de souris surexprimant une protéine humaine (superoxide dismutase 1) présentant une conformation normale de la protéine normale et associée aux formes familiales de la sclérose latérale amyotrophique, le but étant bien sûr d'étudier cette maladie.

[116] BOILEE et al., « Onset and Progression in Inherited ALS Determined by Motor Neurons and Microglia ».
[117] The Jackson Laboratory, « MGI - Phenotypes, Alleles & Disease Models - Tg(SOD1*G37R)1Dwc ».

- Production : un transgène (SOD1*G37R) a été conçu pour reproduire le gène à l'origine de la protéine modifiée désirée. Il est flanqué de deux séquences lox. Une recombinase Cre peut permettre d'inactiver le gène par recombinaison entre les 2 sites lox. Il est ainsi possible de contrôler l'expression du gère lors de l'élevage par croisement avec des souris exprimant la Cre dans les tissus d'expression du gène modifié. Le transgène est intégré au génome par micro-injection dans des ovocytes fécondé (C57BL/6J x C3H/HeJ). Il s'en suit un back-cross sur un fond C57BL/6J sur 30 générations. Les souris des colonies entretenues au Jackson Laboratory Repository sont importées par le chercheur à l'EPFL.
- Génotype : il s'agit d'animaux homozygotes concernant le gène d'intérêt. Il s'agit d'un fond génétique C57BL/6J élevés avec statut sanitaire jugé bon.
- Observations complémentaires envisagées : aucune autre observation n'est envisagée. La lignée étant déjà connue, les mesures de surveillance nécessaires ont déjà été mises en place.
- Plan d'observation : observation 3-4 fois par semaine dans un premier temps. Dès l'apparition des symptômes, les animaux sont surveillés quotidiennement.
- Résumé de la caractérisation de la contrainte :
- Stade d'évaluation : l'évaluation de la contrainte est achevée pour cette lignée. La décision des autorités est en attente.
- Contrainte : paralysie progressive avec une mortalité de 100 % à 300 jours d'âge. Aucun problème de fertilité avant apparition des symptômes.
- Phénotype : degré de contrainte évalué à 2 *(Cf. **Degré de gravité des contraintes** en annexes)*. Une perte de neurones moteurs de la moelle épinière et de certains relais ganglionnaires innervant l'ensemble des muscles striés entraîne l'apparition d'une myopathie progressive sévère conduisant à une paralysie des membres pelviens notamment. Apparition des symptômes à 200j de vie, faiblesse musculaire à 260 jours, paralysie des membres pelviens et amyotrophie visible à 285 jours, espérance de vie de 290 jours.
- Atténuation de la contrainte : dès l'apparition des symptômes, ajout de granulés dans la cage et utilisation de biberons à longue tige pour permettre aux souris à mobilité réduite de se déplacer correctement.
- Critère d'euthanasie : lorsque les animaux sont incapables de se remettre sur le ventre après 20 secondes lorsqu'ils ont été préalablement placés volontairement sur le dos, ils sont mis à mort.
- Élevage d'animaux et utilisation dans les expériences : volonté d'utiliser au maximum 81 animaux avec 3 phases annuelles de reproduction en utilisant 1 mâle *SOD1*G37R* et 2 femelles wild-type pour environ 8 petits par portées avec 50 % de transgéniques. Cette étude vise à comparer une précédente étude portant sur une autre mutation de la protéine SOD1 afin d'en comparer les résultats.
- Pesée des intérêts : aucun traitement de sclérose latérale amyotrophique n'existe actuellement. L'identification de nouvelles cibles thérapeutiques chez la sourie est indispensable à la découverte d'un traitement chez l'Homme. Le fait de réaliser ces expériences sur de courtes durées et avec des interventions chirurgicales mineures rendent le projet acceptable par rapport aux bénéfices potentiels.

### 3.3.2. Détection du caractère invalidant d'une lignée grâce à l'analyse des cas recensés par CaseTracker

Il est possible d'utiliser l'onglet d'analyse de CaseTracker afin de voir si la lignée étudiée semble bel et bien montrer des phénotypes invalidants.

Dans cet onglet, le choix du symptôme « trouble neurologique/locomoteur » permet d'obtenir le nombre de cas dans les différentes lignées concernées. CaseTracker ne pouvant pour le moment pas accéder au nombre total d'animaux d'une lignée, on ne peut que comparer les valeurs absolues des nombres de cas observés d'une lignée à l'autre. Ainsi, sur l'ensemble des animaux ayant présenté ce symptôme, deux lignées se détachent des autres avec une quinzaine de cas chacune en un an : la *Egr3*$^{KO}$ et la *Tg(SOD1*G37R)1Dwc/J*. Les souris d'autres lignées ayant présenté ce symptôme sont en quantité moins importante avec un maximum de 7 pour une troisième lignée. La lignée *Egr3*$^{KO}$ est également une lignée présentant des troubles neuromoteurs avec un développement précoce anormal des fibres musculaires striées et une dégénérescence post-natale précoce, conduisant à des troubles locomoteurs[118]. Pour ce qui est de la lignée d'intérêt ici, la *Tg(SOD1*G37R)1Dwc/J*, on voit que sur un maximum de 81 animaux utilisés à l'année, on a alors une incidence de plus de 15 % ce qui confirme la présence d'un phénotype invalidant.

L'inspection des cas enregistrés dans CaseTracker permet également de détecter un nombre de cas très important de priapisme ou de phimosis chez les souris *SCID beiges*. Depuis la mise en place de CaseTracker, 36 cas ont été détectés sur cette lignée. Les autres lignées ont présenté au maximum 4 cas. Cela représenterait environ 2 % seulement des animaux de cette lignée utilisés, mais cette nette différence avec les autres lignées mériterait d'être explorée afin d'infirmer ou non une origine génotypique.

[118] TOURTELLOTTE et Milbrandt, « Sensory Ataxia and Muscle Spindle Agenesis in Mice Lacking the Transcription Factor Egr3 ».

# 4. LIMITES

Le système mis en place actuellement n'est qu'un système parmi d'autres, mis en place dans un contexte donné. Malgré des qualités indéniables et un potentiel évolutif important, il subsiste néanmoins des limites pouvant être liées à l'interprétation de la réglementation ou au système lui-même.

## 4.1. Limites liées aux interprétations de la législation actuelle

### 4.1.1. Définitions

Le premier problème pouvant être posé par la réglementation est un problème de définition. Qu'est-ce qu'un mutant ? Qu'est-ce qu'une lignée ou une souche ? Quels sont les critères nécessaires pour qu'un phénotype soit considéré comme invalidant ?

Ces définitions n'existent pas toujours ou ne sont pas nécessairement accordées aux définitions consensus de la communauté scientifique. Dès lors, il devient difficile de répondre parfaitement aux exigences de la loi.

> ***Mutants présentant un phénotype invalidant :*** *tout animal qui, suite à une modification génétique, connaît des douleurs ou des maux, présente des dommages, vit en état d'anxiété ou souffre pour une autre raison d'une atteinte profonde à son aspect physique ou à ses aptitudes. La mutation invalidante peut être apparue spontanément, avoir été induite par un facteur physique ou chimique ou avoir été produite par génie génétique.*
>
> ***Lignée ou souche présentant un phénotype invalidant :*** *la lignée ou la souche qui comporte des animaux porteurs d'une mutation invalidante ou dont l'élevage aboutit à des animaux instrumentalisés de manière excessive.*[119]

On peut retrouver ici une définition réglementaire du terme « invalidant ». Il s'agit donc de douleurs, de maux, de dommages, d'anxiété ou d'une atteinte grave de l'aspect physique ou des capacités de l'animal. Cette définition, bien qu'existante, ne permet pas de fixer des critères objectifs pouvant être appliqués à un animal lambda. Il reviendra donc aux comités d'éthique de convenir au cas par cas des caractères pouvant être considérés comme invalidants.

Le caractère invalidant est associé ici au terme « phénotype », ce qui traduit une origine génétique des maux constatés. Cependant, lorsque la réglementation parle de lignée présentant un phénotype invalidant, elle complète la liste de maux précédente avec une nouvelle notion « d'instrumentalisation excessive » des animaux. Cet aspect complète la LPA[120] qui définit qu'il y a contrainte lorsqu'un animal présente « des douleurs, des maux ou des dommages sont causés à l'animal, lorsqu'il est mis dans un état d'anxiété ou avili, lorsqu'on lui fait subir des interventions modifiant profondément son phénotype ou ses capacités, ou encore lorsqu'il est instrumentalisé de manière excessive ». Cette nouvelle donnée n'a pas nécessairement de lien avec un l'origine génétique décrite plus tôt et est relativement imprécis (elle s'applique d'ailleurs aux autres utilisations des animaux par l'Homme comme l'élevage agricole). Dès lors, comment juger qu'une manipulation génétique donnée porte atteinte à la dignité d'un animal ? Aucun critère objectif ne permet d'affirmer cela et toute décision dépendra du jugement éthique des personnes décisionnaires. De plus, des

[119] Conseil fédéral suisse, *Ordonnance sur la protection des animaux (OPAn)*, chap. 1, Art. 2.3.
[120] Assemblée fédérale de la Confédération suisse, *Loi fédérale sur la protection des animaux (LPA)*.

discussions internes à l'EPFL et d'autres réalisées avec les autres institutions et les services vétérinaires cantonaux seront nécessaires à la précision de ce critère réglementaire.

Les organismes génétiquement modifiés sont définis par la loi sur le génie génétique[121] comme « tout organisme dont le matériel génétique a subi une modification qui ne se produit pas naturellement, ni par multiplication ni par recombinaison naturelle ». Or, l'ordonnance sur l'expérimentation animale[122] s'applique à la fois aux OGM et aux mutants, à savoir les organismes ayant subi des modifications génétiques naturelles. La difficulté, dès lors, est que tout animal utilisé peut présenter une mutation spontanée entraînant un phénotype invalidant. Cela conduirait, par application littérale de la réglementation, à une déclaration quasi systématique des lignées utilisées comme présentant un phénotype invalidant et changerait du tout au tout les moyens à mettre en œuvre pour rester dans le cadre de la loi.

*<u>Exemple :</u> Les C57BL/6 sont susceptibles de développer des dermatites ulcératives davantage que d'autres lignées[123]. La question est donc de savoir si l'on doit les considérer comme des mutants, ce qui est probablement le cas, et ainsi les traiter avec les autres souris ayant ce fond génétique, comme des lignées à phénotype invalidant. Dans ce cas, il deviendrait extrêmement difficile d'entreprendre une gestion des phénotypes invalidants à si grande échelle. La réglementation laisse pour le moment des marges d'action qui permettent d'éviter une surcharge de travail, en attendant de trouver un consensus international (groupes des travail ESLAV, Phenomin…).*

Les termes de « lignées » ou de « souches » sont également utilisés sans distinction et ne permettent pas une interprétation unique de la loi.

Du point de vue génétique, une souche devrait plutôt être associée au fond génétique utilisé (C57BM/6J par exemple). La lignée peut être définie scientifiquement de plusieurs manières *(Cf. **Définition lignée** en annexes)*. Il peut s'agir de l'ensemble des animaux issus des mêmes animaux fondateurs *(Cf. Figure 72**a** en annexes)* ou encore de l'ensemble des animaux apparentés et ayant le même fond génétique *(Cf. Figure 72**b** en annexes)*.

La confusion entre les termes de « lignée » et de « souche », ajoutée à l'absence consensus scientifique sur la définition d'une lignée, oblige donc à les considérer comme un seul bloc ce qui pose plusieurs problèmes :

- Lorsque des animaux ont subi les mêmes modifications génétiques, ils sont susceptibles de présenter des phénotypes invalidants identiques. Font-ils pour autant partie de la même lignée s'ils n'ont aucun parent en commun ou de deux lignées distinctes sachant qu'elles auront des noms identiques ?
- Lorsque des animaux d'une même lignée sont transférés sur un nouveau fond génétique, ils peuvent présenter de nouveaux phénotypes invalidants ou en perdre certains. Pourtant, ayant les mêmes fondateurs, ils font partie de la même lignée. Il faudrait donc dans ce cas rédiger une nouvelle fiche de déclaration mais cela n'est pas fait systématiquement en raison des imprécisions de définitions du terme « lignée ».

---

[121] Assemblée fédérale de la Confédération suisse, *Loi fédérale sur l'application du génie génétique au domaine non humain (LGG)*.

[122] Office fédéral de la sécurité alimentaire et des affaires vétérinaires, *Ordonnance de l'OSAV concernant la détention des animaux d'expérience, la production d'animaux génétiquement modifiés et les méthodes utilisées dans l'expérimentation animale*.

[123] WILLIAMS et al., « Ulcerative Dermatitis in C57BL/6 Mice Exhibits an Oxidative Stress Response Consistent with Normal Wound Healing »; KASTENMAYER, FAIN, et PERDUE, « A Retrospective Study of Idiopathic Ulcerative Dermatitis in Mice with a C57BL/6 Background »; LAWSON et al., « Vitamin E as a Treatment for Ulcerative Dermatitis in C57BL/6 Mice and Strains with a C57BL/6 Background ».

*<u>Exemple :</u> Les souris « Rip-Tag » développent spontanément des insulinomes entraînant des hypoglycémies considérées comme des phénotypes invalidants. Cependant, le basculement de la mutation désirée sur un nouveau fond génétique peut modifier de manière significative l'intensité des symptômes. Dès lors, faut-il considérés tous ces animaux comme faisant partie d'une seule et unique lignée ?*

- Lorsque des animaux présentent des phénotypes invalidants, il peut également s'agir d'une dérive du fond génétique utilisé par mutation spontanée. Faut-il alors considérer l'ensemble de la lignée comme présentant un phénotype invalidant, sachant que des mesures d'élevages pourraient purifier ce fond génétique et supprimer le phénotype non désiré ?

*<u>Exemple :</u> Chez un chercheur de l'EPFL, les souris d'une lignée STX, sur un fond génétique C57BL/6J, se sont mises à présenter de l'hydrocéphalie avec une incidence élevée. De simples mesures d'élevage ont permis de purifier la lignée de manière à éliminer la mutation spontanée à l'origine de ces cas d'hydrocéphalie.*

### 4.1.2. <u>Méthode de caractérisation phénotypique</u>

A ces problèmes de définitions, s'ajoutent des imprécisions concernant la méthode à utiliser par exemple. Elles permettent aux différentes de structures de mettre en place des systèmes différents les plus adaptés à leur fonctionnement. Cependant, le cadre réglementaire est tantôt trop strict (fréquence des contrôles des animaux), tantôt trop vague (choix d'une méthode rétrospective ou prospective, contrôle des mesures mises en place…) du fait du caractère théorique de la législation sans qu'elle n'ait été expérimentée préalablement.

Il en est de même concernant les déclarations à réaliser concernant les lignées susceptibles de présenter des phénotypes invalidants. Lorsque des doutes portent sur une lignée, celle-ci doit être contrôlée sur 3 générations et 100 animaux afin de vérifier que cette lignée peut potentiellement présenter des phénotypes invalidants.

> *Une lignée est réputée ne pas présenter un phénotype invalidant si au total 100 animaux obtenus au cours de trois générations au moins ont été contrôlés et qu'aucune contrainte n'a été décelée lors de ces contrôles.*[124]

Cette obligation de contrôle ne précise rien quant à un lien génétique avec les contraintes observées. Il ne s'agit donc pas de s'assurer, comme cela devrait être le cas, que ces contraintes sont liées au phénotype. De plus la question de la fréquence d'apparition de la contrainte devrait être posée. Or, avec cet article, on comprend qu'à partir d'un cas détecté, la lignée entière est considérée comme présentant un phénotype invalidant. Cela signifie aussi que toutes les lignées suspectes seront déclarées comme lignées présentant un phénotype invalidant puisque pour qu'il y ait un doute, il a nécessairement été constaté une contrainte (donc 1 contrainte sur 3 générations et 100 animaux = phénotype invalidant)

Ainsi, si un cas de prolapsus rectal est notifié sur une lignée (sachant qu'il peut avoir pour origine une infection par des bactéries du genre *Helicobacter*), en appliquant littéralement la loi, elle devient logiquement une lignée à phénotype invalidant et doit être déclarée aux autorités, sans même être certain que cette anomalie a une origine génotypique.

[124] Office fédéral de la sécurité alimentaire et des affaires vétérinaires, *Ordonnance de l'OSAV concernant la détention des animaux d'expérience, la production d'animaux génétiquement modifiés et les méthodes utilisées dans l'expérimentation animale*, sect. 2, Art. 14.4.

Enfin, lorsque l'on travaille sur une lignée pouvant présenter un phénotype invalidant, cela ne signifie pas qu'elle va déclarer systématiquement le phénotype. Cependant, chaque année, le ***formulaire CH*** *(Cf. annexes)* doit être complété en précisant le nombre d'animaux des lignées susceptibles de présenter un phénotype invalidant et ils sont ainsi tous considérés comme présentant ce phénotype.

*Exemple : Certaines lignées n'ont aucun système immunitaire ce qui constitue de manière certaine un phénotype invalidant dans un milieu conventionnel. Cependant, ces animaux sont élevés dans l'animalerie SPF, ce qui permet de supprimer toutes les contraintes de par les conditions sanitaires strictes. Sur le formulaire CH, il faudra donc notifier que la totalité de ces souris ont présenté un phénotype invalidant sur l'année écoulée même si en réalité elles n'avaient été soumises à aucune contrainte.*

Il conviendrait donc de définir plusieurs catégories afin de refléter au mieux la réalité plutôt que de déclarer tous les animaux sans distinction comme le prévoit la réglementation :

- Pas de phénotype invalidant (exemple des lignées non génétiquement modifiées ou des lignées exprimant un gène rapporteur)
- Pas de phénotype invalidant exprimé (exemple d'une modification silencieuse grâce au système lox)
- Phénotype invalidant en théorie mais contrainte exprimée grâce aux conditions d'hébergement et d'utilisation prévues par le projet (Exemple de lignées immunodéficientes élevées en condition sanitaire protégée, de souris à phénotype invalidant tardif utilisées avant son apparition, de symptôme contrôlé par médication...)
- Phénotype invalidant avec contrainte constatée, associée au degré observé selon les critères réglementaires prévus *(Cf.* ***Degré de gravité des contraintes*** *en annexes)* (exemple de souris myopathes utilisée à l'âge de début d'expression de la maladie)

## 4.2. Limites liées au système actuel

### 4.2.1. CaseTracker

CaseTracker n'a montré que très peu de dysfonctionnements à la suite de sa mise en place. L'étude réalisée auparavant sur les besoins de cette base de données et la réalisation d'un cahier des charges ont permis d'obtenir un logiciel fonctionnel très rapidement.

Certains défauts ou certaines modifications potentielles ont été identifiés grâce à l'implication des utilisateurs (animaliers et vétérinaire) dans le processus d'amélioration continue. On peut par exemple noter l'ajout d'une nouvelle couleur pour la gestion des cas placés sous surveillance uniquement avec la création d'un nouveau format de fiche à attacher à la cage concernée, ou encore l'ajout de l'heure des différentes opérations réalisées afin d'optimiser le suivi. D'autres améliorations seront mises en place prochainement, telles que la possibilité de joindre des photos à la notification de fin de traitement ou encore un symbole signalant au vétérinaire la présence d'un commentaire de l'animalier (et inversement).

Il ressort des sondages réalisés que CaseTracker est chronophage pour les animaliers. Malheureusement, même si des améliorations pourront être apportées dans le futur, cette charge de travail est en grande partie due à l'évolution de la réglementation. De plus, la mise en place de CaseTracker a permis de détecter plus d'anomalie chez les animaux hébergés. Sur 2013 et 2014, des moyennes de 188 et 275 cas par mois, respectivement, étaient notifiés et gérés. En 2015, CaseTracker a été progressivement mis en place et la moyenne de cas était de 456 cas par mois. Cette année, plus de 4500 cas avait été créés à la fin du mois de juillet ; ce qui correspond à une moyenne de 650 cas par mois. Il est à noter que depuis 2013, la population annuelle des animaleries n'a quasiment pas augmenté. Cette augmentation des détections des anomalies contribue elle aussi à augmenter la charge de travail des animaliers.

Or, une charge de travail plus élevée pour animaliers constitue bel et bien selon moi une limite, soit du système, soit de la législation. L'expérimentation animale est une affaire de pesée des intérêts, à la fois pour les animaux, mais aussi pour les études réalisées, les chercheurs, les animaliers et la structure d'accueil. Privilégier l'un de ces acteurs par rapport aux autres doit être réfléchi auparavant et justifié pour le bien commun.

Les principales modifications qui seront apportées à CaseTracker dans un futur proche portent sur :

- L'amélioration de la liste des diagnostics ;
- La gestion des lignées susceptibles de présenter un ou des phénotypes invalidants déjà détectées.

#### 4.2.1.1. Diagnostics de CaseTracker

En effet, la liste des diagnostics actuelle pourrait être plus précise et est également relativement anarchique.

Exemple : Une souris présente une grosseur abdominale. A l'heure actuelle, on peut choisir comme diagnostic « Masse (tumeur, abcès, kyste...) », « Tumeur », « Tumeur mammaire ».

Le problème réside dans le fait que les diagnostics ne sont pour l'heure pas hiérarchisés. Dans le cas d'une telle grosseur, il conviendrait d'utiliser une arborescence pour poser le diagnostic :

Masse (tumeur, abcès, kyste...) → Tumeur → Tumeur mammaire

Cette hiérarchie dans les diagnostics, en plus d'être plus précise et plus logique que la liste actuelle, permet également d'éviter les erreurs lorsqu'un diagnostic de certitude n'est pas possible. Lorsqu'il est possible d'identifier une masse comme étant due à un processus néoplasique, il est parfois en revanche impossible de déterminer de quel type de tumeur il s'agit. Il paraît scientifiquement plus juste d'utiliser une telle classification hiérarchisée.

De plus, cette amélioration permettra d'évaluer plus facilement les évolutions concernant :

- Le nombre de traitements réalisés ;
- Le nombre de cas d'animaux trouvés morts afin de déterminer si CaseTracker a permis d'anticiper cette mortalité ;
- Le nombre de cas d'animaux guéris afin de juger si la fréquence a augmenté ;

#### 4.2.1.2. Gestion de phénotypes invalidants connus

Une fonctionnalité déjà présente sur CaseTracker, mais non utilisée à l'heure actuelle, permet d'enregistrer les diagnostics correspondant à des phénotypes invalidants et de les associer aux lignées connues.

Cette possibilité permettra aux utilisateurs de CaseTracker de savoir immédiatement si un symptôme apparu sur une lignée correspond aux phénotypes invalidants enregistrés. Cela permettra à terme d'optimiser la vigilance quant aux lignées d'animaux génétiquement modifiés.

De plus, la possibilité d'ajouter à ces données les critères d'interruption correspondants permettra également d'améliorer la prise en charge.

Ce dernier point sera potentiellement ajouté aux fonctionnalités de PyRAT et les critères d'interruption n'auraient dans ce cas plus qu'à être extraites par CaseTracker.

### 4.2.2. CaseTracker et PyRAT

Le potentiel de CaseTracker, bien qu'important, est bridé par la base de données PyRAT. En effet, nombre des informations nécessaires au fonctionnement de CaseTracker sont importées de PyRAT. Cependant, certaines de ces données ne sont pas exportables directement mais nécessitent une recherche de la part de CaseTracker. Or, les accords passés entre les développeurs de PyRAT et l'EPFL stipulent que CaseTracker ne pourra pas réaliser, à partir des données de importées, d'autres actions que celles déjà permises par PyRAT.

Ainsi, le point le plus problématique concerne l'intégration de calculs statistiques à CaseTracker. Les applications pourraient être quasi illimitées mais sont pour l'instant limitées à des fonctions de bases. Il est ainsi possible d'isoler l'ensemble des diagnostics posés par le pôle vétérinaire et de voir comment sont répartis les cas dans les différentes lignées enregistrées et également dans les différents intervalles d'âges.

Cependant, il est pour le moment impossible d'aller plus loin dans les études statistiques. Il serait pour cela nécessaire de comptabiliser le nombre de cas sur une période donnée et de les rapporter au nombre d'animaux présent dans chaque lignée durant la période étudiée. Ces informations ne pouvant être extraites à l'heure actuelle depuis PyRAT, les données enregistrées par CaseTracker ne peuvent pas servir à la réalisation d'études statistiques quantitatives.

Ce problème devra être résolu par la suite, par négociation de nouveaux accords avec les développeurs de PyRAT ou par ajouts de nouvelles fonctions à PyRAT, afin de pouvoir déployer l'ensemble du potentiel de CaseTracker.

Le second problème est également en lien avec PyRAT, mais vient surtout du fonctionnement même de l'EPFL. En effet, l'ensemble des chercheurs possédant des animaux dans les différentes animaleries de l'EPFL se doivent de les enregistrer tous dans PyRAT. Cependant, cette base de données a été mise en place alors que certaines études étaient déjà en cours. Les différents chercheurs se sont progressivement mis à utiliser PyRAT, mais certains chercheurs, ayant leur propre base de données, refusent toujours de l'utiliser. Dans ces cas précis, les données nécessaires à la création d'un nouveau cas dans CaseTracker doivent entièrement être intégrées à la main. Cela entraîne non seulement une perte de temps non négligeable, mais surtout limite encore plus le potentiel d'études rétrospectives de CaseTracker.

Là encore, il faudra, à plus ou moins long terme, que les chercheurs se plient tous à cette règle afin de pouvoir avoir un suivi centralisé de l'ensemble des animaux de l'EPFL.

### 4.2.3. Nomenclatures des lignées murines transgéniques

Enfin, la question d'uniformisation des nomenclatures demeure problématique. La nomenclature principalement utilisée pour décrire les lignées génétiquement modifiés est celle établie par le Comité International pour une Nomenclature Génétique Standardisée chez la Souris et expliquée en détail par le Jackson Laboratory[125].

Cependant, beaucoup de chercheurs préfèrent utiliser des nomenclatures ou des noms personnels, et ce pour différentes raisons. Tout d'abord, les noms donnés grâce à ces nomenclatures sont très longs et lourds à utiliser au quotidien. De plus, lors de modifications génétiques multiples ou de croisements successifs avec d'autres fonds génétiques, la nomenclature internationale proposée atteint ses limites.

Ainsi, lors de l'utilisation puis de la déclaration d'une lignée présentant un phénotype invalidant, il est nécessaire que le nom de la lignée puisse être le même par toutes les autres structures susceptibles de l'utiliser. Or, il peut arriver, comme signalé précédemment, que cette nomenclature soit inutilisable.

Dans le cas des animaux de l'EPFL, cette nomenclature a été mise en place progressivement afin d'uniformiser les notations de toutes les équipes de recherches. Cependant, ce travail n'est pas encore terminé et il subsiste d'autres appellations. Pendant longtemps, les chercheurs entraient eux-mêmes leurs lignées sur PyRAT, ce qui conduisait non seulement à des noms ne respectant pas la nomenclature officielle, mais aussi à des noms écrits de façon incorrecte. Ainsi, les C57BL/6J étaient enregistrées sous une dizaine de noms différents (C57BL/6J, C57BL6/J, C57BL6-J…). S'agissant d'un des noms les plus simples à écrire, il parait évident que des noms de lignées transgéniques entraînaient encore plus d'erreurs.

Enfin, il persiste encore le problème des chercheurs n'utilisant pas PyRAT et utilisant des noms de lignées non officiels.

Il est ainsi assez difficile d'uniformiser la nomenclature utilisée au sein de l'EPFL de par les limites de la nomenclature officielle, la confusion venant de la manière d'écrire ces noms ou encore l'utilisation de noms non officiels plus simples au quotidien. Les noms officiels des lignées enregistrées dans PyRAT sont désormais associés aux noms d'usage utilisés par les chercheurs lorsque cela est possible. Cependant, devant la complexité d'homogénéisation de la nomenclature à l'échelle d'une unique structure, il est évident que cette uniformisation le sera encore plus à l'échelle d'un canton, du pays et enfin à échelle internationale.

[125] EPPIG, BLAKE, et McANDREW, « MGI - Mouse Nomenclature ».

## 5. BILAN DE CASETRACKER

La création de CaseTracker est encore récente et ne nombreuses modifications seront encore apportées à ce système. D'autre part, il est nécessaire de garder à l'esprit que des découvertes scientifiques et des modifications réglementaires seront à l'origine de modifications du logiciel à l'avenir. Ainsi, l'EPFL se dotera prochainement d'une animalerie allant accueillir un nouveau modèle animal : le zebrafish. Une adaptation de CaseTracker sera donc peut-être nécessaire.

A l'heure actuelle, il est néanmoins possible de retenir le bilan suivant :

- La gestion des cas d'animaux malades est plus efficace qu'auparavant, avec un plus grand nombre de cas détectés et un meilleur suivi de ceux-ci.
- La détection de phénotypes invalidants n'est pas encore optimale, à la fois du fait de limites techniques subsistant dans CaseTracker, mais également à cause des liens avec PyRAT qui devront être optimisés par la suite. De plus, l'utilisation de lignées transgéniques complexes, avec des noms pas toujours normalisés, rend la tâche difficile.
- Les déclarations réglementaires seront assurément simplifiées par l'utilisation de CaseTracker à l'avenir. Il sera sans doute possible de remplir automatiquement certains formulaires grâce à cette base de données.
- La réalisation de statistiques n'est également pas encore satisfaisante mais l'adaptabilité de CaseTracker couplée avec des discussions avec les développeurs de PyRAT devraient permettre la conception d'un outil puissant.
- CaseTracker permet également un archivage et une rétrospection sur d'ancien cas. Ces fonctionnalités sont déjà utilisables et l'ajouts de d'avantages de filtres (concernant la lignée par exemple) dans la prochaine version rendra ces opérations plus faciles.
- Enfin, la simplicité d'utilisation, la puissance de CaseTracker et son caractère évolutif joueront un grand rôle dans la prise de décision éthiques concernant le bien-être animal. Il sera ainsi possible d'optimiser les stratégies d'élevage lors de détection de phénotypes invalidants et les soins apportés aux animaux sont d'ores et déjà plus rapide et le suivi est de meilleure qualité qu'auparavant.

# CONCLUSION

L'héritage des différents penseurs nous a appris que nous ne sommes pas si différents de l'animal. Mais alors, pourquoi l'Homme s'est-il accordé le droit d'exploiter l'animal à ses propres fins ? Toujours est-il que l'usage que fait l'Homme de l'animal n'a cessé d'augmenter et de se diversifier, incluant des méthodes de modification génétique, d'abord par sélection, et maintenant par des techniques moléculaires qui révolutionnent les approches scientifiques, médicales et agronomiques. L'essor de la transgénèse a conduit à la fois à des progrès spectaculaires dans des domaines variés, mais a également permis à l'Homme d'avoir une emprise encore plus forte sur l'animal, et peut être même par la suite sur l'être humain lui-même. Le développement de techniques de modification génétiques tels que le système CRISPR-Cas9 a contribué à repousser l'horizon des possibles en matière de transgénèse, et les années à venir seront certainement le théâtre d'innovations que l'on peine encore à imaginer à l'heure actuelle.

Les recherches actuelles permettent ainsi de parfaire les connaissances biologiques et le développement de traitements pour des maladies jusqu'alors incurables. À ces fins, des centaines de lignées murines transgéniques sont créées et utilisées par la communauté scientifique, dans des établissements comme l'Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne (EPFL) où j'ai effectué ce travail de thèse. L'élevage de ces animaux met en œuvre de nombreuses méthodes, comme la reproduction assistée, le génotypage et la gestion sanitaire.

Il n'est cependant pas tolérable d'exploiter des êtres sensibles à n'importe quel prix. Les droits que l'Homme s'est accordé sont contrebalancés par des devoirs moraux consistant à n'infliger des souffrances que lorsque c'est nécessaire, et débattre sur les méthodes acceptables. Depuis les années 1960, la démarche éthique en expérimentation a considérablement évoluée, passant en particulier d'une approche purement individuelle (la responsabilité morale du chercheur) à une approche collective (l'évaluation de la qualité et du bien-fondé des recherches par les pairs, a posteriori et a priori). La réglementation évolue aussi régulièrement pour organiser un cadre à la protection animale ; actuellement l'ensemble des pays d'Europe respecte la Directive UE 2010/63 de protection des animaux utilisés à des fins scientifiques et la Suisse a construit un dispositif similaire et détaillé pour le respect du bien-être animal. Cependant, au-delà du cadre règlementaire, ce sont les structures d'expérimentation animale qui doivent être vigilantes quant aux progrès scientifiques et aux contraintes qui risquent d'être imposées aux animaux.

Le système informatique CaseTracker qui a été développé à l'EPFL est un outil répondant à la législation suisse en matière de détection et de gestion des phénotypes invalidants. Il a déjà permis d'augmenter le nombre de diagnostics posés et possède un important potentiel d'adaptation à de futures évolutions scientifiques ou juridiques. Comme tout outil technique, ce système CaseTracker doit être en bonne adéquation avec les objectifs et les méthodes de travail propres à chaque établissement. J'ai contribué aux différentes phases de sa conception et de sa mise en œuvre. A l'issue de ce travail, j'ai pu réaliser que les vétérinaires ont un rôle important à jouer dans ces recherches, pas seulement du fait de leurs connaissances médicales, mais aussi en développant une approche collaborative avec les équipes de recherche sur le plan de la réglementation et de l'éthique de l'utilisation de l'animal.

**Thèse de M. Arthur Humbert.**

**Le Professeur responsable**
**VetAgro Sup campus vétérinaire**

**Le Directeur général**
**VetAgro Sup**

Pour Délégation
Dr. L. FREYBURGER
Directeur de l'Enseignement
et de la Vie Etudiante
VetAgro Sup Campus Vétérinaire

| 36 | GROUPEMENT HOSPITALIER SUD | 730 |
|---|---|---|

CENTRE HOSPITALIER LYON SUD
69495 PIERRE BENITE Cedex
Unité d'Immunologie Clinique et Allergologie
CONSULTATIONS
Professeur F. BERARD

**Le Président de la thèse**

**Vu et permis d'imprimer**

**Lyon, le** 1/12/2016 06 DEC 2016

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1

**Pour Le Président de l'Université,**
**Le Président du Comité de Coordination des Etudes Médicales**
**Professeur** Pierre COCHAT

# Bibliographie


- ANDERSEN, Monica Levy, et Sergio TUFIK, éd. *Rodent Model as Tools in Ethical Biomedical Research*. Springer, 2015.
- Anonyme. *La Bible - Ancien et Nouveau Testament*. Ebooks libres et gratuits. Version Louis Segond (1910), 2012.
- ARMBRUSTER, Blaine N., Xiang LI, Mark H. PAUSCHE, Stefan HERLITZE, et Bryan L. ROTH. « Evolving the Lock to Fit the Key to Create a Family of G Protein-Coupled Receptors Potently Activated by an Inert Ligand ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104, nº 12 (20 mars 2007): 5163-68. doi:10.1073/pnas.0700293104.
- Assemblée fédérale de la Confédération suisse. *Loi fédérale sur la protection des animaux (LPA)*, 2005. https://www.admin.ch/opc/fr/official-compilation/2008/2965.pdf.
- *Loi fédérale sur l'application du génie génétique au domaine non humain (LGG)*, 2003.
- BABINET, C, et M COHEN-TANNOUDJI. « Vingt ans d'interventions délibérées sur le génome de la souris : une révolution dans l'approche génétique de la biologie des mammifères. » *médecine/sciences* 16, nº 1 (2000): 31. doi:10.4267/10608/1499.
- BAKHTINA, Vitalia. « L'expérimentation sur les primates en droit suisse ». Maitrise interdisciplinaire en droit du vivant, Université de Fribourg, 2013. http://www.unifr.ch/spccr/assets/files/spccrpdf/bakhtina.pdf.
- BALL, M., Wikimedia Commons. *Chemical structure of DNA, with colored label identifying the four bases as well as the phosphate and deoxyribose components of the backbone.*, 27 mars 2007. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:DNA_chemical_structure.svg.
- BANFI, Damiano. « Base de données CaseTracker », 2016.
- BERNARD, Claude. *Introduction à la médecine expérimentale*. BnF collection ebooks, 2016.
- BOILEE, Séverine, Koji YAMANAKA, Christian S. LOBSIGER, Neal G. COPELAND, Nancy A. JENKINS, George KASSIOTIS, George KOLLIAS, et Don W. CLEVELAND. « Onset and Progression in Inherited ALS Determined by Motor Neurons and Microglia ». *Science* 312, nº 5778 (2 juin 2006): 1389-92. doi:10.1126/science.1123511.
- Boris, Wikimedia Commons. *Nucleotides 1 FR*, 4 décembre 2010. https://commons.wikimedia.org/wiki/Main_Page.
- BRAMBELL, Francis William Rogers. *Report of the Technical Committee to Enquire Into the Welfare of Animals Kept Under Intensive Livestock Husbandry Systems*. Londres: H.M. Stationery Office, 1965. https://books.google.fr/books/about/Report_of_the_Technical_Committee_to_Enq.html?id=KcbwPgAACAAJ&redir_esc=y.
- BRASSARD, Colline. « Anthropozoologie du chat en Egypte ancienne ». Mémoire bibliographique, Université Claude Bernard, 101p, 2013. http://www.laboratoiredanthropologieanatomiqueetdepaleopathologiedelyon.fr/MEMOIRE%20%20COLLINE%20BRASSARD%202013.pdf.
- BUCHAN, Iain. « Site StatDirect », 2000 2016. http://www.statsdirect.com/.
- CHAPOUTHIER, Georges. « L'évolution de l'expérimentation animale : Claude Bernard et la période-clé du XIXe siècle ». Université Paris Diderot - Paris 7, 2008.
- Charles River Laboratories. « Technical sheet - Helicobacter species », 2011. http://www.criver.com/files/pdfs/infectious-agents/rm_ld_r_helicobacter_species.aspx.
- CHAVOT, Pierre, Sonia DARTHOU, Carlos PEREIRA, Régis BOYER, et Virginie LEROT. « Des animaux, des hommes et des dieux ». *Religions & Histoire*, mars 2013.
- *Code civil*, 1804. http://geneaduclos.free.fr/docs/Code%20Civil%20des%20Francais_1804.pdf.
- *Code civil*. *Code civil*, 2015. http://www.legifrance.gouv.fr/telecharger_pdf.do?cidTexte=LEGITEXT000006070721.
- Code pénal, 2015.
- Code rural et de la pêche maritime, 2015.
- Conseil de l'Europe. *Convention européenne sur la protection des animaux vertébrés utilisés à des fins expérimentales ou à d'autres fins scientifiques*. *Série des Traités Européens*, 2005.
- *Directive du Conseil du 24 novembre 1986 concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives des États membres relatives à la protection des animaux utilisés à des fins expérimentales ou à d'autres fins scientifiques*, 1986.
- « Liste complète des signatures et ratifications du traité 123 ». *Bureau des Traités*, 27 août 2016. http://www.coe.int/web/conventions/full-list.
- Conseil fédéral suisse. *Ordonnance sur la protection des animaux (OPAn)*, 2008. https://www.admin.ch/opc/fr/official-compilation/2008/2985.pdf.
- *Constitution fédérale de la Confédération suisse*, 1999.
- COUTURIER, Florian. « Les implications morales du darwinisme : une lecture de l'oeuvre de James Rachels ». Phdthesis, Université de Grenoble, 2014. https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01127105/document.
- CPG. « Plan des animaleries de l'EPFL », 2008.
- CREPIN, Michel. *Expression des gènes et génie génétique*. Herman. Paris, 1997.
- D'AQUIN, Thomas. *Summa theologiae - Prima pars - Dieu, la création*, 1267. http://www.thomas-d-aquin.com/Pages/Traductions/Traductions4.html.
- DAREMBERG, Charles. *Œuvres anatomiques, physiologiques et médicales de Galien*. Librairie de l'Académie Impériale de médecine. Vol. Tome premier. Paris: J. B. Baillière, 1854.
- *Décret n°59-1051*, 1959. https://www.animallaw.info/sites/default/files/stfrdecreeno59_1051.pdf.
- *Décret pris pour l'application de l'article 276 du code rural*, 1980. http://legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000000503223.
- DEISSEROTH, Karl. « Optogenetics ». *Nature Methods* 8, nº 1 (janvier 2011): 26-29. doi:10.1038/nmeth.f.324.

- DENAIS, Delphine. « Les animaleries pour animaux transgéniques : législation et agréments ». Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 2002. http://oatao.univ-toulouse.fr/691/.
- Département fédéral de l'intérieur (DFI). *Ordonnance du DFI sur les formations à la détention d'animaux et à la manière de les traiter*, 2008. https://www.admin.ch/opc/fr/official-compilation/2008/4303.pdf.
- DESBAILLETS HAKIMI, Isabelle. « Cours de législation pour gardiens d'animaux ». CPG - EPFL, 2015.
- DESCARTES, René. « Lettre au marquis de Newcastle », 23 novembre 1646.
- DI BONDONE, G., Musée du Louvre. *Prédelle du retable de Saint François d'Assise recevant les stigmates : Saint François prêchant aux oiseaux*. Huile sur bois, 1300. http://www.revendeurs.rmngp.fr/fr/catalogue/produit/4178-predelle-du-retable-de-saint-francois-assise-recevant-les-stigmates-saint-francois-prechant-aux-oiseaux-detail.html?r=L2ZyL2NhdGFsb2d1ZS9yZWNoZXJjaGUvMT9hcj1jb2xsZS1kaS12ZXNwaWduYW5vLWRpdC1naW90dG8tZGktYm9uZG9uZS0xMjY3LTEzMzc%3D.
- DOUDNA, Jennifer. *How CRISPR lets us edit our DNA*, 2015. https://www.ted.com/talks/jennifer_doudna_we_can_now_edit_our_dna_but_let_s_do_it_wisely?language=en.
- DOUDNA, Jennifer A., et Emmanuelle CHARPENTIER. « The New Frontier of Genome Engineering with CRISPR-Cas9 ». *Science* 346, nº 6213 (28 novembre 2014). doi:10.1126/science.1258096.
- DOYLE, Alfred, Michael P. McGARRY, Nancy A. LEE, et James J. LEE. « The Construction of Transgenic and Gene Knockout/Knockin Mouse Models of Human Disease ». *Transgenic research* 21, nº 2 (avril 2012): 327-49. doi:10.1007/s11248-011-9537-3.
- DUTRUGE, Patrick. « Cours de génétique », 2010.
- EPFL. « EPFL | École polytechnique fédérale de Lausanne », 2016. http://www.epfl.ch/.
- EPPIG, Janan, Judith BLAKE, et Monica McANDREW. « MGI - Mouse Nomenclature », 2016. http://www.informatics.jax.org/mgihome/nomen/index.shtml.
- FLECKNELL, Paul. « Replacement, Reduction and Refinement ». *ALTEX* 19, nº 2 (2002): 73-78.
- Genopole. « Histoire de la génétique ». *Genopole - Réussir ensemble en Biotechnologie*, 2010. http://www.genopole.fr/Histoire-de-la-genetique.html.
- GERMOND, Philippe, et Jacques LIVET. *Bestiaire égyptien*. Editions Citadelles & Mazenod. Paris, 2001.
- GILSON, Etienne. *Le Thomisme - Introduction au système de Saint Thomas d'Aquin*. Librairie philosophique J. VRIN. Paris, 1922.
- GORDON, J. W., et F. H. RUDDLE. « Integration and stable germ line transmission of genes injected into mouse pronuclei ». *Science* 214, nº 4526 (11 décembre 1981): 1244-46.
- GORDON, Jon W. « Transgenic Technology and Laboratory Animal Science ». *ILAR Journal / National Research Council, Institute of Laboratory Animal Resources* 38, nº 1 (1997): 32-41.
- GRAIN, Françoise. « Cours de génétique ». Vetagro Sup, 2013 2012.
- Grand Conseil du Canton de Vaud. *Loi d'application de la législation fédérale sur la protection des animaux (LVLPA)*, 2015.
- Groupes de travail d'experts de la Comission Européenne. *Key elements of a GA rodent welfare assessment scheme*, 2013.
- GUILLEN, Javier, Jan-Bas PRINS, David SMITH, et Anne-Dominique DEGRYSE. *Regulations and Recommendations for Global Collaborative Research - Chapter 5 - The European Framework on Research Animal Welfare Regulations and Guidelines*. Boston: Academic Press, 2014. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123978561000052.
- HALL, Bradford, Advait LIMAYE, et Ashok B KULKARNI. « Overview: Generation of Gene Knockout Mice ». *Current Protocols in Cell Biology / Editorial Board, Juan S. Bonifacino ... [et Al.]* CHAPTER (septembre 2009): Unit-19.1217. doi:10.1002/0471143030.cb1912s44.
- Hans, Sigg. « L'expérimentation animale en Suisse ». *BioFokus n°84*, Décembre 2011. http://www.recherche-vie.ch/.
- HELLEZ, Justine. « Les utilisations de la thérapie génique ». Université Claude-Bernard - Lyon 1, 2014. https://www.google.fr/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=3&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwioi4aQwYzPAhXGnRoKHVkPC1IQFggoMAI&url=http%3A%2F%2Fwww2.vetagro-sup.fr%2Fbib%2Ffondoc%2Fth_sout%2Fdl.php%3Ffile%3D2014lyon062.pdf&usg=AFQjCNERMpZfSimI5uTYf_tRty3DmpN3HA&sig2=yHbGcZtxyzapmJtma6Ti7w.
- HERODOTE. *Histoires*. Traduit par LARCHER. Charpentier. Vol. Tome premier. Paris, 1850.
- HOUDEBINE, Louis Marie. « Transgenic Animals ». In *eLS, eLS*. John Wiley & Sons, Ltd, John Wiley & Sons, Ltd, 2014. http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9780470015902.a0000990.pub3/abstract, http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9780470015902.a0000990.pub3/abstract.
- HOUDEBINE, Louis-Marie. « Use of Transgenic Animals to Improve Human Health and Animal Production ». *Reproduction in Domestic Animals* 40, nº 4 (1 août 2005): 269-81. doi:10.1111/j.1439-0531.2005.00596.x.
- JAENISCH, R. « Transgenic Animals ». *Science* 240, nº 4858 (10 juin 1988): 1468-74. doi:10.1126/science.3287623.
- JAKOBOVITS, Aya, BruceT. LAMB, et KennethR. PETERSON. « Production of Transgenic Mice with Yeast Artificial Chromosomes ». In *Developmental Biology Protocols: Volume II*, édité par RockyS. TUAN et CeciliaW. LO, 435-53. Methods in Molecular Biology™ 136. Humana Press, 2000. http://dx.doi.org/10.1385/1-59259-065-9%3A435.
- JEAN-LOUIS, Thierry. « Fondements philosophiques et juridiques du droit de l'animal ». Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard, 2000. http://www2.vetagro-sup.fr/bib/fondoc/th_sout/dl.php?file=2000lyon099.pdf.
- JINEK, Martin, Krzysztof CHYLINSKI, Ines FONFARA, Michael HAUER, Jennifer A. DOUDNA, et Emmanuelle CHARPENTIER. « A Programmable Dual-RNA-Guided DNA Endonuclease in Adaptive Bacterial Immunity ». *Science (New York, N.Y.)* 337, nº 6096 (17 août 2012): 816-21. doi:10.1126/science.1225829.
- KASTENMAYER, Robin J, Michele A FAIN, et Kathy A PERDUE. « A Retrospective Study of Idiopathic Ulcerative Dermatitis in Mice with a C57BL/6 Background ». *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 45, nº 6 (1 novembre 2006): 8-12.

- KERNBAUM, Serge. *Dictionnaire de médecine - Flammarion - 8e édition*. Flammarion-8e édition., 2008.
- KUMAR, G. B. Sunil, T. R. GANAPATHI, C. J. REVATHI, L. SRINIVAS, et V. A. BAPAT. « Expression of Hepatitis B Surface Antigen in Transgenic Banana Plants ». *Planta* 222, nº 3 (26 mai 2005): 484-93. doi:10.1007/s00425-005-1556-y.
- LABARRIERE, Jean-Louis. *La condition animale - Etudes sur Aristote et les stoïciens*. Peeters. Aristote, traductions et études. Paris, 2005.
- LAVIROTTE, Agnès. « La position de l'homme et de l'animal dans la finalité chez Aristote ». Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard, 89p, 2009. http://www2.vetagro-sup.fr/bib/fondoc/th_sout/dl.php?file=2009lyon052.pdf.
- LAWSON, Gregory W., Akiko SATO, Lynn A. FAIRBANKS, et Timothy P. LAWSON. « Vitamin E as a Treatment for Ulcerative Dermatitis in C57BL/6 Mice and Strains with a C57BL/6 Background ». *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 44, nº 3 (15 mai 2005): 18-21.
- LEHN, P. « Vecteurs Rétroviraux Pour Le Transfert de Gènes Dans Le Tissu Hématopoïétique in Vivo ». *Médecine/sciences* 6, nº 8 (1990): 791. doi:10.4267/10608/4237.
- Livre des Morts d'Ani, British Museum, Wikimedia Commons. *La pesée du Coeur*. Papyrus, vers 1200. https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/e/ee/BD_Weighing_of_the_Heart.jpg.
- Loi Grammont, 1850.
- *Loi relative à la protection de la nature*, 1976. http://www.google.ch/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=3&ved=0CCsQFjACahUKEwjs96WLyNDGAhWLvRQKHVu3CrM&url=http%3A%2F%2Fwww.cbnmc.fr%2Fdocpdf%2Fdownload.php%3Fpdf%3D1976_07_13_Loi_Protection_Nature.pdf&ei=XLqfVezZLIv7UtvuqpgL&usg=AFQjCNEpO-jWTN25krMAMSJJBaIm7pToJg&bvm=bv.96952980,d.d24&cad=rja.
- MAINTEROT. « Liste des dieux et génies égyptiens », 2012. http://www.fichier-pdf.fr/2012/08/01/dieux-egyptiens/.
- MANIS, John P. « Knock-Out, Knock-In, Knock-Down - Genetically Manipulated Mice and the Nobel Prize ». *New England Journal of Medicine* 357, nº 24 (décembre 2007): 2426-29. doi:10.1056/NEJMp0707712.
- MAURIN-BLANCHE, Henri. « L'expérimentation animale au cours du temps : un beau sujet de controverse ». *Paris*, nº 7 (février 2007): 11.
- McLAREN, Anne. « Cloning: Pathways to a Pluripotent Future ». *Science* 288, nº 5472 (9 juin 2000): 1775-80.
- MGI - Mouse Nomenclature. « Brachyury (T) Gene Detail », 2016. http://www.informatics.jax.org/marker/MGI:98472.
- Microsoft Encarta. Microsoft Corporation, 2009.
- Ministère de la recherche. « OGM - Enjeux des recherches », 2001. http://media.education.gouv.fr/file/13/1/7131.pdf.
- MONTAGUTELLI, Xavier. « Effect of the Genetic Background on the Phenotype of Mouse Mutations ». *Journal of the American Society of Nephrology* 11, nº suppl 2 (1 novembre 2000): S101-5.
- MONTAIGNE, Michel de. *Les Essais*. Bibliothèque de la Pléiade. Gallimard, 2007.
- Muséum de Altamira, Wikimedia Commons. *Reproduction d'un bison de la grotte d'Altamira*, décembre 2008. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:AltamiraBison.jpg.
- Office fédéral de la sécurité alimentaire et des affaires vétérinaires. *Ordonnance de l'OSAV concernant la détention des animaux d'expérience, la production d'animaux génétiquement modifiés et les méthodes utilisées dans l'expérimentation animale*, 2010. https://www.admin.ch/opc/fr/official-compilation/2010/1479.pdf.
- Office fédéral de la sécurité alimentaire et des affaires vétérinaires (OSAV). « Statistiques sur les expériences sur animaux », 2016. http://tv-statistik.ch/fr/statistiques-dynamiques/index.php.
- « Statistiques sur l'expérimentation animale en Suisse », 2016. http://tv-statistik.ch/fr/statistique-simples/index.php.
- Parlement européen et Conseil de l'Union Européenne. *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*, 2010. http://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32010L0063&qid=1436529939426&from=FR.
- PLANTIER, Yann. « Cours d'éthique ». Université Catholique de Lyon, 2015.
- RACHELS, James. *Created From Animals - The Moral Implications of Darwinism*. Oxford University Press, 1990.
- ROMAO, Isabela, et Jesse ROTH. « Genetic and Environmental Interactions in Obesity and Type 2 Diabetes ». *Journal of the American Dietetic Association*, Emerging Trends in Diabetes Prevention & ControlApplications to Practice, 108, nº 4, Supplement (avril 2008): S24-28. doi:10.1016/j.jada.2008.01.022.
- Roten, Fabienne Crettaz von. « Public Perceptions of Animal Experimentation across Europe ». *Public Understanding of Science* 22, nº 6 (1 août 2013): 691-703. doi:10.1177/0963662511428045.
- ROTH, Bryan L. « DREADDs for Neuroscientists ». *Neuron* 89, nº 4 (17 février 2016): 683-94. doi:10.1016/j.neuron.2016.01.040.
- ROTH, Bryan L. « DREADDs for Neuroscientists ». *Neuron* 89, nº 4 (février 2016): 683-94.
- RÜLICKE, T. H., X. MONTAGUTELLI, B. PINTADO, R. THON, et H. J. HEDRICH. « FELASA Guidelines for the Production and Nomenclature of Transgenic Rodents ». *Laboratory Animals* 41, nº 3 (1 juillet 2007): 301–311. doi:10.1258/002367707781282758.
- RUSSELL, William Moy Stratton, et Rex Leonard BURCH. *The Principles of Humane Experimental Technique*. Université du Michigan: Methuen, 1959. https://books.google.fr/books?id=j75qAAAAMAAJ.
- SALA, Francesco, M MANUELA RIGANOManuela Rigano, Alessandra BARBANTE, Barbara BASSO, Amanda M WALMSLEY, et Stefano CASTIGLIONE. « Vaccine Antigen Production in Transgenic Plants: Strategies, Gene Constructs and Perspectives ». *Vaccine*, Vaccines and Immunisation 2003. Based on the Third World Congress on Vaccines and Immunisation, 21, nº 7–8 (30 janvier 2003): 803-8.
- SCHWEITZER, Albert. *La civilisation et l'éthique*. Éditions Alsatia, 1976.
- *Ma vie et ma pensée*. Club des Éditeurs, 1960.
- Scionics Computer Innovation. « PyRAT », 2016. https://sv-pyrat.epfl.ch/.
- Service de la consommation et des affaires vétérinaires du Canton de Vaud. *Directives sur le fonctionnement de la Commission élaborées sur la base de l'article 13 de la loi d'application de la législation fédérale du 1er septembre 2015 sur la protection des animaux*, 2016.

- Silver, Lee M. *Mouse Genetics: Concepts and Applications*. Oxford University Press, 1995.
- SINGER, Peter. *La libération animale*. Petite Bibliothèque Payot. Paris: Payot, 2012.
- Site Egyptos. « Symbolique des animaux en Egypte antique », 16 mars 2009. http://www.egyptos.net/egyptos/dieux/la-symbolique-des-animaux-en-egypte-antique.php.
- STANFORD, W. L., J. B. COHN, et S. P. CORDES. « Gene-Trap Mutagenesis: Past, Present and beyond ». *Nature Reviews. Genetics* 2, nº 10 (octobre 2001): 756-68. doi:10.1038/35093548.
- STRABON. *Géographie*. Traduit par Amédée TARDIEU. Hachette et Cie. Paris, 1867.
- TANNENBAUM, Jerrold, et B Taylor BENNETT. « Russell and Burch's 3Rs Then and Now: The Need for Clarity in Definition and Purpose ». *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science : JAALAS* 54, nº 2 (mars 2015): 120-32.
- The Jackson Laboratory. « 129S4/SvJaeJ », 2016. https://www.jax.org/strain/009104.
- « MGI - Phenotypes, Alleles & Disease Models - Tg(SOD1*G37R)1Dwc », 2016. http://www.informatics.jax.org/allele/key/43265.
- « Mouse Gene and Strain Nomenclature Tutorial », 2016. https://www2.jax.org/nomenclature-tutorial/#slide-9.
- « Mouse Nomenclature », 2016. https://www.jax.org/jax-mice-and-services/customer-support/technical-support/genetics-and-nomenclature?webSyncID=44137084-5d4b-450e-804d-e1ee3d0705a5&sessionGUID=13430bc4-1115-209e-cc6b-b9b1a963b99b.
- « Thy1-ChR2-YFP », 2016. https://www.jax.org/strain/007612.
- « Vglut2-ires-cre », 2016. https://www.jax.org/strain/016963.
- TOURTELLOTTE, Warren G., et Jeffrey Milbrandt. « Sensory Ataxia and Muscle Spindle Agenesis in Mice Lacking the Transcription Factor Egr3 ». *Nature Genetics* 20, nº 1 (septembre 1998): 87-91. doi:10.1038/1757.
- *Traité de Lisbonne*, 2009.
- Traité établissant une Constitution pour l'Europe, 2004. http://www.cvce.eu/obj/traite_etablissant_une_constitution_pour_l_europe_rome_29_octobre_2004-fr-6ea22f22-4455-431f-a30d-c1e719c6aa43.html.
- WAROT, Xavier. « Présentation du CPG ». CPG - EPFL, 2015.
- WATERSON, Robert H., Kerstin LINDBLAD-TOH, Ewan BIRNEY, Jane ROGERS, Josep F. ABRIL, Pankaj AGARWAL, Richa AGARWALA, et al. « Initial Sequencing and Comparative Analysis of the Mouse Genome ». *Nature* 420 (décembre 2002): 520-62. doi:10.1038/nature01262.
- WEBER, Elin M., et I. Anna S. OLSSON. « Maternal Behaviour in Mus Musculus Sp.: An Ethological Review ». *Applied Animal Behaviour Science* 114, nº 1–2 (1 novembre 2008): 1-22. doi:10.1016/j.applanim.2008.06.006.
- Wikimedia Commons. *Tétradrachme athénien représentant Athéna*, 410apr. J.-C. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:T%C3%A9tradrachme_ath%C3%A9nien_repr%C3%A9sentant_Ath%C3%A9na.jpg
- WILLIAMS, Lisa K, Lauren S CSAKI, Rita M CANTOR, Karen REUE, et Greg W LAWSON. « Ulcerative Dermatitis in C57BL/6 Mice Exhibits an Oxidative Stress Response Consistent with Normal Wound Healing ». *Comparative Medicine* 62, nº 3 (juin 2012): 166-71.

# Glossaire

**Animal knockin :** Animal produit par manipulation génétique de telle sorte qu'un locus ciblé a été modifié, soit par substitution par une autre séquence, soit par addition.

**Animal knockout :** Animal produit par manipulation génétique de telle sorte qu'un locus ciblé a été rendu non-fonctionnel, soit par l'insertion d'une séquence perturbant l'expression du gène ciblé, soit par suppression d'une partie du gène ciblé.

**Back-cross** (ou rétrocroisement) : croisement des descendants, sélectionnés pour avoir récupéré le caractère désiré, par la lignée receveuse. L'objectif est d'augmenter la part de la lignée receveuse dans le fond génétique des animaux créés tout en conservant le caractère désiré.

**Blastocyste :** Embryon âgé de 3,5 jours et composé de 64-128 cellules, majoritairement de 2 types : les cellules du trophectoderme et les cellules de la masse cellulaire interne. L'embryon possède une cavité appelé le blastocœle.

**Cellule ES :** Cellule pluripotente non différenciées provenant de la masse cellulaire interne d'un blastocyste.

**Chimère :** animal formé d'au moins deux populations de cellules génétiquement distinctes.

**Contrainte :** La définition de la contrainte est réglementaire. « Il y a contrainte notamment lorsque des douleurs, des maux ou des dommages sont causés à l'animal, lorsqu'il est mis dans un état d'anxiété ou avili, lorsqu'on lui fait subir des interventions modifiant profondément son phénotype ou ses capacités, ou encore lorsqu'il est instrumentalisé de manière excessive. »[126]

**CONV :** Statut sanitaire conventionnel utilisé pour l'hébergement d'animaux librement exposés depuis leur naissance aux micro-organismes de leur milieu naturel. Le terme désigne ici une animalerie de l'EPFL.

**CPG :** Centre de PhénoGénomique de l'EPFL apportant expertise et conseils aux chercheurs et gérant l'expérimentation animale.

**DFI :** Le Département Fédéral de l'Intérieur est notamment en charge de la prévoyance vieillesse et de la santé.

**Exon :** Portion de gène, qui est retrouvée dans l'ARN cytoplasmique après épissage.

**Génome :** Information génétique totale contenue dans un seul jeu de chromosomes.

**Génotype :** Ensemble de l'information génétique d'un individu.

**Génotypage :** Discipline visant à rechercher et détecter une variation génétique, à une position spécifique sur la totalité ou une partie du génome. Ces techniques sont utilisées dans le but de vérifier l'intégration correcte d'un transgène au génome par exemple.

**Intron :** Portion de gène, le plus souvent non codante, qui ne se retrouve pas dans l'ARN cytoplasmique après épissage.

[126] Assemblée fédérale de la Confédération suisse, *Loi fédérale sur la protection des animaux (LPA)*.

**Knockout conditionnel / inductible :** Animal produit par manipulation génétique de telle sorte qu'un locus ciblé a été modifié par l'addition d'éléments de site de reconnaissance par une recombinase flanquant la séquence d'intérêt afin de faciliter son élimination du génome dans une ou plusieurs populations cellulaires.

**Lignée :** Élevage avec une sélection des reproducteurs principalement selon des critères généalogiques/génétiques.

**Lignée consanguine :** Élevage avec une sélection des reproducteurs parmi les frères et sœurs en vue d'obtenir des individus quasi-identiques génétiquement.

**Locus :** Emplacement physique précis et invariable sur un chromosome. Un locus peut être un endroit du chromosome où se situe un gène mais pas nécessairement.

**Œstrus :** Période durant laquelle une femelle mammifère est fécondable et recherche l'accouplement en vue de la reproduction.

**OSAV :** L'Office Fédéral des Affaires Vétérinaires a pour principale mission de promouvoir activement la santé et le bien-être de l'homme et de l'animal. Son action repose essentiellement sur la sécurité des aliments et une alimentation saine, pour l'homme, et sur la protection et la santé des animaux.

**P1 :** Zones d'hébergement conçues pour abriter des dangers de classe 1, c'est-à-dire non susceptibles de provoquer une maladie chez l'homme.

**P2 :** Zones d'hébergement conçues pour abriter des dangers de classe 2, c'est-à-dire pouvant provoquer une maladie chez l'homme et constituer un danger pour les travailleurs. Leur propagation dans la collectivité est peu probable et il existe une prophylaxie ou un traitement efficaces.

**P3 :** Zones d'hébergement conçues pour abriter des dangers de classe 1, c'est-à-dire pouvant provoquer une maladie grave chez l'homme et constituer un danger sérieux pour les travailleurs. Leur propagation dans la collectivité est possible mais il existe généralement une prophylaxie ou un traitement efficaces.

**Phénotype :** Ensemble des caractères observables d'un individu.

**Phénotypage :** Observation, détection ou mesure d'un ou plusieurs caractères ayant pour origine l'expression génotypique associée ou non à des interactions environnementales.

**Promoteur :** Région de l'ADN située à proximité d'un gène et indispensable à la transcription de l'ADN en ARN.

**Pseudo-gestation :** Manifestations physiques et psychiques d'une gestation y compris la sécrétion de lait après saillie chez une femelle non fécondée, donc en absence de gestation. Elle est induite par stimulation hormonale suivie d'un accouplement avec un mâle stérile.

**Souche :** Élevage sans sélection particulière des reproducteurs (utilisant parfois un système d'accouplement aléatoire), seul le lieu d'élevage et son degré d'ouverture/extérieur est défini.

**SPF** (ou IOPS) : Statut sanitaire défini par rapport à une liste de référence de micro-organismes et parasites indésirables du fait d'un risque zoonotique, vétérinaire ou expérimental. Le terme désigne ici une animalerie de l'EPFL.

**Transgène :** Séquence d'ADN intégré au génome après avoir été introduite dans l'embryon.

**UDP :** Unité de Phénotypage de l'EPFL.

**Xénogreffe :** Greffe chirurgicale de cellules, de tissus et / ou d'organes provenant d'une espèce animale apparentée ou non.

# Annexes

## TABLE DES ANNEXES


1. ANNEXES RELATIVES AU PRÉAMBULE : ANTHROPOZOOLOGIE ..... 122

1.1. L'ANIMAL DANS L'ANTIQUITÉ ..... 122
1.1.1. Égypte Antique ..... 122
1.1.2. Grèce et Rome Antiques ..... 126
1.2. NAISSANCE ET ÉVOLUTION DE LA PENSÉE CHRÉTIENNE ..... 129
1.2.1. Ancien Testament ..... 129
1.2.2. Évolution dans la pensée chrétienne ..... 129
1.3. LA RENAISSANCE ET LES LUMIÈRES ..... 131
1.4. L'ANIMAL AU XIXÈME ET AU XXÈME SIÈCLES ..... 132

2. ANNEXES RELATIVES À LA PREMIÈRE PARTIE ..... 135

2.1. ANNEXE VIII DE LA DIRECTIVE 2010/63/UE ..... 135
2.2. ANNEXE DU DOCUMENT DE TRAVAIL SUR LES ANIMAUX GÉNÉTIQUEMENT MODIFIÉS ..... 136
2.3. DEGRÉ DE GRAVITÉ DES CONTRAINTES ..... 137
2.4. EXPÉRIMENTATION ANIMALE EN SUISSE ..... 138
2.4.1. Statistiques de l'OSAV concernant l'année 2015 ..... 138
2.4.2. Chapitre 6 de l'OPAn- Expérimentation animale, animaux génétiquement modifiés et mutants présentant un phénotype invalidant ..... 139
2.4.3. Ordonnance sur l'expérimentation animale ..... 140
2.5. FORMULAIRES RÉGLEMENTAIRES ..... 142
2.5.1. Formulaire M ..... 142
2.5.2. Fiche technique AGM ..... 145
2.5.3. Formulaire CH ..... 148

3. ANNEXES RELATIVES À LA DEUXIÈME PARTIE ..... 149

3.1. HISTORIQUE ..... 149
3.2. RAPPELS DE GÉNÉTIQUE ..... 151
3.2.1. L'ADN, support de l'information génétique ..... 151
3.2.2. L'utilisation de l'information génétique lors de la synthèse protidique ..... 153
3.2.3. Le gène ..... 155
3.3. NOMENCLATURE DES LIGNÉES MURINES ..... 157

4. ANNEXES RELATIVES À LA TROISIÈME PARTIE ..... 158

4.1. ORGANISATION DU CPG ..... 158
4.1.1. Organigramme ..... 158
4.1.2. Procédure de gestion des animaux malades ..... 159
4.1.3. Fiches de traitements ..... 161
4.2. SONDAGES ..... 162
4.2.1. Questionnaires soumis aux animaliers ..... 162
4.2.2. Résultats détaillés des sondages ..... 164
4.3. FONCTIONNEMENT DE CASETRACKER ..... 165
4.3.1. Procédure de CaseTracker ..... 165
4.3.2. Documentation papier ..... 167
4.4. DÉFINITION LIGNÉE ..... 169

# 1. ANNEXES RELATIVES AU PRÉAMBULE : ANTHROPOZOOLOGIE

Les premiers témoignages que l'on connait de l'aube de l'humanité datent du paléolithique supérieur (entre 40 000 et 10 000 ans avant J.-C.)[127].

***Figure 48 :*** *Bison polychrome d'Altamira*[128]

Dès lors, les rapports avec les animaux, qu'ils soient religieux, philosophiques, scientifiques ou affectifs sont omniprésent dans les différentes cultures et aux différentes époques qu'a connues l'humanité.

## 1.1. L'animal dans l'Antiquité

### 1.1.1. Égypte Antique

Dans l'Égypte antique, les animaux occupent une place essentielle. Ils sont omniprésents dans la société. Contrairement au message de l'Ancien Testament ou à la vision de la culture hellénique, que nous aborderons plus tard, la religion dans l'ancienne Égypte ne crée aucune hiérarchie entre l'Homme, les animaux et même les végétaux et les minéraux. Tous sont les éléments d'un tout[129].

Ainsi, les Textes des Sarcophages, écrits funéraires datant du Moyen Empire, placent clairement l'Homme au même niveau que les autres animaux :

> *Les faucons vivent des oiseaux plus petits ; les chiens, de leurs maraudes ; les pourceaux, du désert ; les hippopotames, des marais ; les hommes*, de *grains ; les crocodiles, de poissons ; les poissons, de ce qui est dans le flot montant. Tout cela conformément à l'ordre d'Atoum.*[130]

---

[127] CHAVOT et al., « Des animaux, des hommes et des dieux », Religions & Histoire, p. 25.
[128] Muséum de Altamira, Wikimedia Commons, *Reproduction d'un bison de la grotte d'Altamira*.
[129] GERMOND et LIVET, *Bestiaire égyptien*, 11.
[130] Ibid., 12.

Si l'animal est omniprésent dans l'Égypte antique, c'est que les animaux sont considérés comme des réceptacles divins potentiels[131], des manifestations visibles des dieux alors que leur pouvoir demeure invisible.

*Les hiéroglyphes*

Les premières images d'animaux qui nous viennent à l'esprit lorsque l'on pense à l'Égypte antique sont sans doute les nombreuses représentations d'animaux parmi les innombrables hiéroglyphes inscrits sur les monuments.

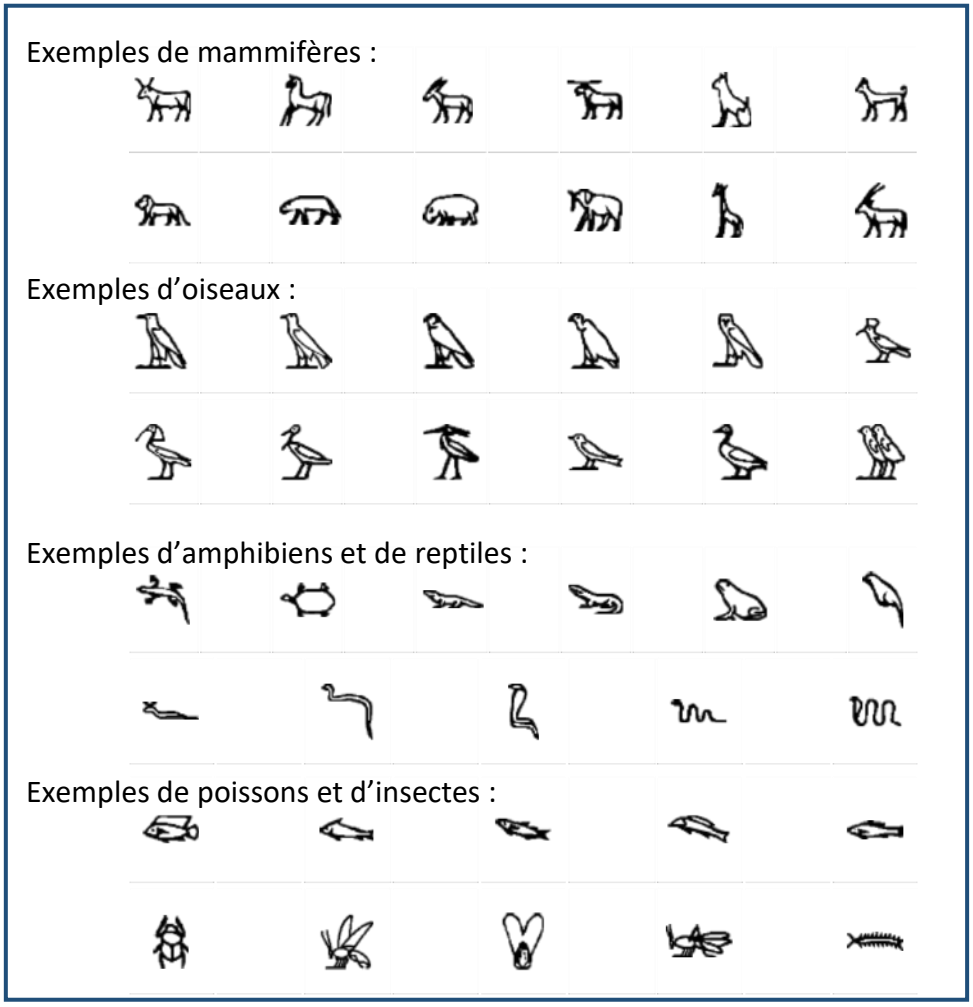


***Figure 49 :*** *Exemple de hiéroglyphes représentant différentes espèces animales* [132]

Les caractères utilisés dans le système d'écriture des égyptiens représentent souvent des végétaux et des animaux. On recense environ 170 hiéroglyphes provenant du monde animal[133].

On retrouve encore la symbolique d'un tout universel dont les animaux ne sont que des éléments parmi les autres et sont intimement liés au reste du monde dans le sens des hiéroglyphes. En effet, on peut citer l'exemple du signe du canard. Il peut désigner simplement le volatile en lui-même ou bien peut avoir une valeur phonétique et désigner le « fils »[134]

[131] BRASSARD, « Anthropozoologie du chat en Egypte ancienne ».
[132] Site Egyptos, « Symbolique des animaux en Egypte antique ».
[133] GERMOND et LIVET, *Bestiaire égyptien*.
[134] Ibid.

L'animal prend une telle place dans la société égyptienne qu'il est omniprésent et est utilisé en permanence à travers des représentations imagées du monde qui les entoure. Ainsi, l'image de la mise-bas d'un veau par la vache nourricière est associée naturellement au ciel qui enfante chaque jour le soleil[135].

*Les divinités*

Dès lors, il n'est rien de surprenant à ce que les représentations divines des gravures et des papyrus soient souvent des « hybrides », corps d'hommes ou de femmes à têtes animales.

***Figure 50 :*** *Papyrus d'Ani du Livre des Morts*[136]

On peut ainsi citer les dieux Anubis, dieu de l'embaumement à tête de chacal, Horus, le dieu-faucon, Thot, dieu du savoir à tête d'ibis, ou encore Sekhmet, déesse guerrière à tête de lionne.

Il est à noter que les représentations des dieux peuvent varier au cours du temps ou selon les pouvoirs qui leurs sont prêtés. Ainsi, Thot est parfois représenté avec une tête de babouin et est considéré comme le Seigneur du Temps.

[135] Ibid.
[136] Livre des Morts d'Ani, British Museum, Wikimedia Commons, *La pesée du Coeur*.

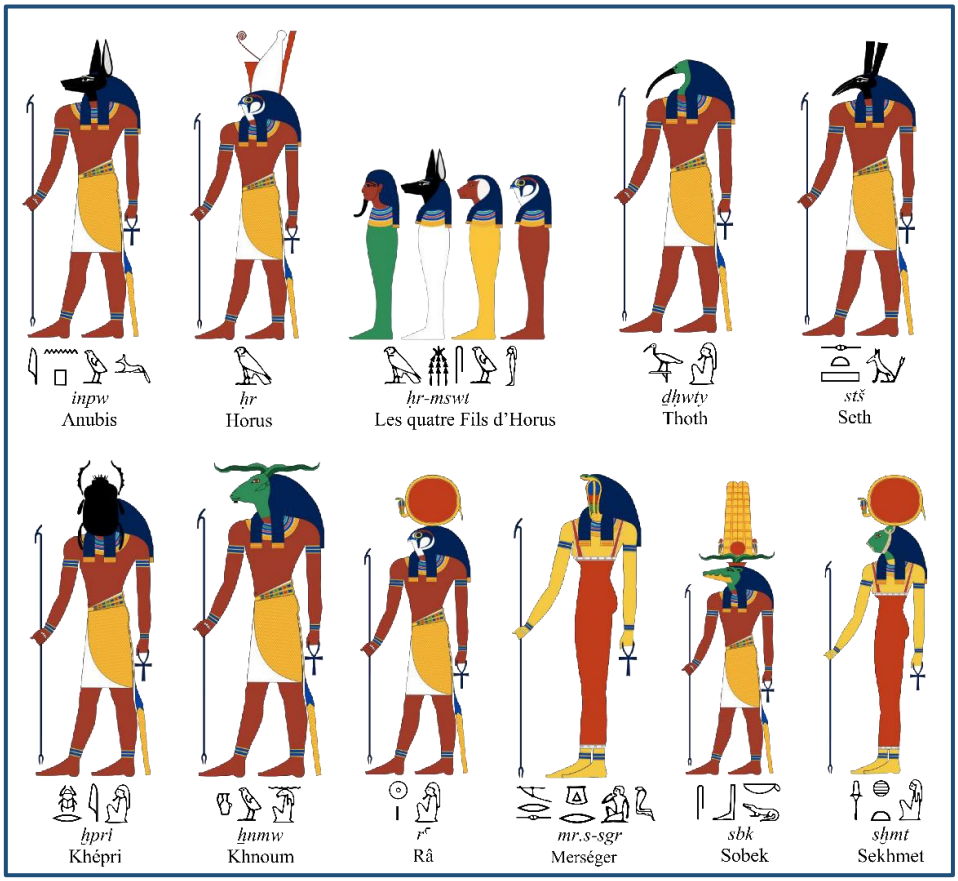


***Figure 51 :*** *Principaux zoomorphismes des divinités égyptiennes*[137]

Si l'Homme est considéré comme l'égal des animaux, il semble exister tout de même un paradoxe. En effet, les cultes voués aux animaux sont variables selon que l'animal appartient à la catégorie des « Uniques », désignées pour leur perfection physiologique ou anatomique, ou à celle des « Multiples ».

> *Seulement, tandis que le bœuf Apis et le bœuf Mnévis sont rangés au nombre des dieux, les animaux qu'on entretient ailleurs […] n'ont pas le rang de divinités, mais reçoivent simplement un caractère sacré.*[138]

Dans le premier cas, un culte est voué à l'Unique. Il rejoint un temple et est embaumé à sa mort au même titre que le pharaon et sa suite. L'exemple le plus connu est celui du Taureau d'Apis

> Cet Apis, appelé aussi Épaphus, est un jeune bœuf, dont la mère ne peut en porter d'autre. Les Égyptiens disent qu'un éclair descend du ciel sur elle, et que de cet éclair elle conçoit le dieu Apis. Ce jeune bœuf, qu'on nomme Apis, se connaît à de certaines marques. Son poil est noir ; il porte sur le front une marque blanche et triangulaire, sur le dos la figure d'un aigle sous la langue celle d'un escarbot, el les poils de sa queue sont doubles.[139]

Dans le second cas, les Multiples étaient momifiés en masse. Il s'agit d'un phénomène plus tardif. Ces animaux avaient un rôle plus symbolique et n'étaient pas considérés comme des dieux.

Restent enfin les animaux non vénérés, utilisés dans la vie quotidienne.

---

[137] MAINTEROT, « Liste des dieux et génies égyptiens ».
[138] STRABON, *Géographie*, liv. XVII, I, p. 427.
[139] HERODOTE, *Histoires*.

*La vie quotidienne*

La civilisation de l'Égypte antique s'étendant sur des milliers d'années, le rapport à l'animal a bien évidemment évolué au cours du temps. C'est dans ces relations quotidiennes que le plus de changement ont eu lieu.

L'animal a d'abord été une source alimentaire à travers la chasse et la pèche. Alors que l'objectif premier était la survie, la chasse perdurera mais aura surtout comme buts la protection des villages et une source de nourriture plus variée.[140]

Vers 6000 avant J.-C., le gibier fut progressivement regroupé dans certaines zones et l'élevage et la domestication furent inventés. Ce bétail servit ensuite à la fois de source directe de nourriture mais également d'aide pour la culture.[141]

Avec cette domestication apparurent également les animaux de compagnie. Qu'il s'agisse de chiens, de chats, de chevaux ou de singes, le rapport entretenu avec eux était plus intime et ces animaux étaient alors considérés comme individus et plus uniquement comme appartenant à un groupe ou à un troupeau.[142]

Même si l'Homme a recourt aux animaux au quotidien, il ne le considère pas comme un outil qu'il domine mais comme l'un des acteurs du jeu universel œuvrant selon sa spécificité. [143]

C'est sans doute l'une des premières civilisations ayant une conception pouvant s'apparenter à une protection animale, à la fois morale et juridique, telle que l'on la conçoit aujourd'hui. En effet, un Égyptien pouvait tout à fait risquer sa vie pour sauver un chat ou bien être condamné voir exécuté pour en avoir tué un.[144]

Il est cependant intéressant de voir qu'il existait déjà une distinction, qui perdure encore aujourd'hui, entre les espèces. Ainsi, même si l'Homme considérait l'animal comme son égal, les relations étaient plus intimes avec un chien ou un chat qu'avec un mouton ou une vache.

### 1.1.2. Grèce et Rome Antiques

L'animal occupe une place centrale dans la culture grecque ancienne. Il est le compagnon de l'Homme, son bétail ou sa source de nourriture. Il est également omniprésent dans les mythes et rituels religieux

*L'animal comme lien avec le divin*

Les animaux dans la Grèce antique sont intimement liés aux dieux. La plupart ont d'ailleurs une représentation animale qui leur est associée.

Ainsi, le cheval et son caractère impétueux représente Poséidon, dieu des mers et des océans, et le galop des vagues. La vigilance d'Athéna, déesse de la guerre et de la sagesse, est associée quant à elle à la chouette et ses yeux grands ouverts.

---

[140] GERMOND et LIVET, *Bestiaire égyptien*.
[141] Ibid.
[142] Ibid.
[143] Ibid.
[144] Ibid.

De plus, lorsque les dieux entrent en contact avec les mortels, c'est très souvent sous l'apparence d'un animal. Zeus a souvent recours à cette ruse et se transforme par exemple en Taureau pour enlever la nymphe Europe.[145]

***Figure 52 :*** *Tétradrachme athénien représentant Athéna (gauche) et symbolisée par la chouette (droite)*[146]

Outre ces représentations, les animaux sont également au centre des relations entre les Hommes et l'Olympe puisqu'ils sont très souvent sacrifiés aux dieux pour s'attirer leurs faveurs. Seuls les animaux de rente (coq, chèvre, mouton ou bœuf) peuvent être sacrifiés et tous n'ont pas la même « valeur » puisque le bœuf est l'animal le plus prestigieux, réservé pour les grandes occasions.

L'animal est ensuite littéralement partagé entre Hommes et dieux. Certains organes sont brûlés afin que la fumée s'élève vers les immortels tandis que la viande est consommée lors d'un banquet.[147]

### *Réflexion sur la condition animale*[148]

La philosophie grecque s'est intéressée à tous les grands thèmes du monde, et la condition animale en faisait partie. Cependant, différentes pensées se distinguent.

L'école pythagoricienne et son fondateur, à l'image des égyptiens anciens, croyaient en la métempsycose. Il s'agit d'une croyance selon laquelle les âmes peuvent transvaser d'un corps à un autre. Ainsi, l'âme des défunts pouvant transiter vers un corps animal, Pythagore encourageait un traitement respectueux des animaux et prônait le végétarisme.[149] L'intérêt porté aux animaux, n'a dans ce cas pas une visée de protection de l'être vivant en tant que tel mais plutôt des Hommes car il est possible qu'ils servent de réceptacle pour l'âme des défunts.

---

[145] CHAVOT et al., « Des animaux, des hommes et des dieux », Religions & Histoire, pp. 33-34.
[146] Wikimedia Commons, *Tétradrachme athénien représentant Athéna*.
[147] CHAVOT et al., « Des animaux, des hommes et des dieux », Religions & Histoire, pp. 34-36.
[148] LABARRIERE, *La condition animale - Etudes sur Aristote et les stoïciens*; LAVIROTTE, « La position de l'homme et de l'animal dans la finalité chez Aristote ».
[149] JEAN-LOUIS, « Fondements philosophiques et juridiques du droit de l'animal ».

Aristote, quant à lui, ne nie pas la sensibilité animale et parle d'ailleurs des « autres animaux », rappelant implicitement que l'Homme est aussi un animal. Cependant, ce partage de certaines ressemblances ne suffit pas à les placer sur un pied d'égalité avec l'Homme.

Selon Aristote, l'âme est une caractéristique propre aux êtres vivants. Il existe trois types d'âmes.

- L'âme végétative : elle a une fonction nutritive. Tous les êtres vivants en ont besoin pour vivre, mais l'âme végétative seule est propre aux plantes qui possèdent uniquement une capacité de croissance et de dépérissement.
- L'âme végétative et sensitive : c'est celle des animaux, qui possèdent aussi une capacité de sensation. Elle est caractérisée également par la possibilité de se mouvoir.
- L'âme végétative, sensitive et intellective : c'est l'âme humaine, qui, en plus des fonctions précédemment décrite, possède la capacité de l'intellection.

Le point essentiel, fondant la hiérarchie du cosmos, concerne la capacité de raisonnement. Les plantes sont faites pour les animaux et les animaux pour l'homme : les animaux domestiques servent à son usage et à sa nourriture ; les animaux sauvages, sinon tous, du moins la plupart, servent à sa nourriture et à ses autres besoins, pour qu'il en tire soit son habillement, soit divers instruments. Cette pensée aristotélicienne constituera le socle de la tradition occidentale jusqu'à la renaissance et continue de nous influencer aujourd'hui.

*Premières expérimentations animales*

Au V$^{ème}$ siècle avant J.-C., Anaxagore de Clazomènes fut l'un des premiers à réaliser des dissections sur des animaux et émit l'hypothèse que les poissons respiraient grâce aux branchies. Par la suite, d'autres s'illustrèrent par cette pratique, tels qu'Aristote, Hippocrate, Érasistrate ou Hérophile[150].

Plus tard au II$^{ème}$ siècle, Claude Galien entreprit de disséquer de nombreux animaux (chèvres, porcs, singes…), morts ou vivants, afin d'étudier leur anatomie et leur physiologie. Il étudia tout particulièrement le rôle des nerfs dans le contrôle des muscles, il travailla sur le fonctionnement de la respiration et de la voix, il réfuta les croyances admises qui affirmaient que les artères transportaient l'air et décrivit plus précisément les différences entre les réseaux veineux et artériel.[151]

Malgré des imprécisions et certaines erreurs, ces travaux constituèrent une avancée majeure et furent les principales références médicales utilisées jusqu'au XVIII$^{ème}$ siècle.[152]

[150] CHAPOUTHIER, « L'évolution de l'expérimentation animale : Claude Bernard et la période-clé du XIXe siècle ».
[151] Microsoft Encarta.
[152] DAREMBERG, *Œuvres anatomiques, physiologiques et médicales de Galien*, préface.

## 1.2. Naissance et évolution de la pensée chrétienne

Avec l'apparition des premières religions monothéistes, Dieu ne peut plus être représenté par l'animal. De plus, l'animal devient alors un outil pour l'Homme.

### 1.2.1. Ancien Testament

> *26 Puis Dieu dit : Faisons l'homme à notre image, selon notre ressemblance, et qu'il domine sur les poissons de la mer, sur le bétail, sur toute la terre, et sur tous les reptiles qui rampent sur la terre.*
>
> *27 Dieu créa l'homme à son image, il le créa à l'image de Dieu, il créa l'homme et la femme.*
>
> *28 Dieu les bénit, et Dieu leur dit : Soyez féconds, multipliez, remplissez la terre, et l'assujettissez ; et dominez sur les poissons de la mer, sur les oiseaux du ciel, et sur tout animal qui se meut sur la terre.*[153]

Dès lors, l'Homme n'est plus l'égal des animaux. Il bénéficie d'un statut spécial au sein de la Création. Il est « à l'image de Dieu » et se distingue ainsi de tous les autres êtres vivants.

Cependant, dans le jardin d'Éden, la violence n'a pas sa place et les animaux sont un cadeau offert à l'Homme par Dieu. L'Homme peut alors se nourrir de fruits et d'autres plantes tant le jardin de la Création est riche.

> *19 L'Éternel Dieu forma de la terre tous les animaux des champs et tous les oiseaux du ciel, et il les fit venir vers l'homme, pour voir comment il les appellerait, et afin que tout être vivant portât le que lui donnerait l'homme.*[154]

Ce n'est qu'après le péché originel que le statut des animaux change. La faiblesse de l'Homme face à la tentation du serpent l'a exclu de l'Éden et plongé dans un monde soumis au mal et à la violence.

> *1 Dieu bénit Noé et ses fils, et il leur dit : Soyez féconds, multipliez, et remplissez la terre.*
>
> *2 Vous serez la crainte et l'effroi pour tout animal de la terre, pour tout oiseau du ciel, pour tout ce qui se meut sur terre, et pour tous les poissons de la mer : ils sont livrés entre vos mains.*
>
> *3 Tout ce qui se meut et qui a vie vous servira de nourriture : je vous donne tout cela comme l'herbe verte.*[155]

Il semble que l'Homme soit alors condamné à exploiter l'animal à partir de sa déchéance. L'animal est alors réduit à des fonctions élémentaires. L'Homme peut le tuer pour se nourrir. Il n'est cependant pas autorisé explicitement le maltraiter.

### 1.2.2. Évolution dans la pensée chrétienne

*Saint Thomas d'Aquin (1225-1274)*

Chez Thomas d'Aquin, on retrouve notamment la même hiérarchie dans la Création que celle établie par Aristote.[156]

---

[153] Anonyme, *La Bible - Ancien et Nouveau Testament*, Genèse 1.26-28.
[154] Ibid., Genèse 2.19.
[155] Ibid., Genèse 9.1-3.
[156] GILSON, *Le Thomisme - Introduction au système de Saint Thomas d'Aquin*.

> *« C'est pourquoi, dans les choses naturelles, les espèces semblent être ordonnées par degrés, les corps mixtes sont plus parfaits que les éléments simples, les plantes que les minéraux, les animaux que les plantes, les hommes que les autres animaux. »*[157]

Thomas d'Aquin affirme que la perfection de la Création réside d'ailleurs dans ces différences et dans cette hiérarchie. Tout comme le corps, dont la plus noble partie est l'œil, perdrait en perfection s'il chaque partie était un œil ou si elle avait la même dignité qu'un œil.[158]

Le schéma moral de Thomas d'Aquin ne condamne pas la cruauté envers les animaux. De plus, il ne considère pas qu'être bon envers eux constitue un acte charitable et avance pour justifier cela plusieurs raisons : l'animal n'étant pas une créature rationnelle, il est incapable de posséder le bien ; l'Homme n'a pas de sentiment communautaire envers les animaux ; l'animal n'est pas capable d'acte de charité. La seule raison qui subsiste justifiant une bienveillance envers les animaux est le risque de reproduire un comportement cruel envers autrui[159].

Cette position domina largement la pensée chrétienne durant tout le Moyen-Âge persista même après.

*Saint François d'Assise (1182-1226)*[160]

***Figure 53 :*** *Saint François prêchant aux oiseaux*[161]

[157] D'AQUIN, *Summa theologiae - Prima pars - Dieu, la création*.
[158] GILSON, *Le Thomisme - Introduction au système de Saint Thomas d'Aquin*.
[159] JEAN-LOUIS, « Fondements philosophiques et juridiques du droit de l'animal ».
[160] Ibid.
[161] DI BONDONE, G., Musée du Louvre, *Prédelle du retable de Saint François d'Assise recevant les stigmates : Saint François prêchant aux oiseaux*.

Saint François d'Assise représente une exception dans la pensée chrétienne, qui n'accordait que peu d'intérêt à la condition animale. Pour lui, la compassion ne doit pas uniquement s'appliquer à l'Homme. Il est de notre devoir de ne pas maltraiter les animaux et de notre responsabilité de leur porter assistance si possible.

> *« Ne pas blesser nos humbles frères les animaux est notre premier devoir envers eux, mais cela ne suffit pas. Nous avons une mission plus grande : les aider chaque fois qu'ils en ont besoin. »*

La légende du loup de Gubbio montre Saint François d'Assise négociant avec ledit animal en lui promettant qu'il n'aura plus à se préoccuper de la faim s'il accepte de renoncer à attaquer la ville et ses habitants. En proposant aux habitants de nourrir le loup en échange de la paix, il illustre parfaitement son désir d'une vie harmonieuse entre l'Homme et le monde animal.

*Connaissances anatomiques*

Le Moyen-Âge constitue une période troublée. De nombreuses guerres, famines ou épidémies, associées à une domination du Christianisme en Occident, eurent comme conséquence une très faible augmentation des connaissances en matière d'anatomie et de médecine en générale. L'examen de cadavres d'animaux était proscrit par l'Église et ce fut donc la pensée aristotélicienne qui domina largement les autres[162]. Ce n'est qu'à partir de la renaissance que les relations entre Homme et animaux évoluèrent et que les expérimentations sur les animaux en vue d'améliorer la médecine recommencèrent.

## 1.3. La Renaissance et les Lumières[163]

*Représentation de l'animal*

Avec l'avènement de l'Humanisme, la soif de savoir, notamment philosophique, conduit les penseurs de l'époque à entreprendre une quête vers de multiples connaissances. Ce courant est avant tout centré sur l'Homme, considéré comme unique et possédant des capacités intellectuelles quasi-illimitées. Ses préoccupations sont de mettre en avant le développement de qualités et de domaines essentiels à l'être humain.

Les penseurs de cette époque n'accordent que peu d'intérêt à la cause animale. Seuls quelques-uns, comme Montaigne, s'intéressent à ce sujet. Il avance plusieurs arguments visant à montrer que, s'il existe des différences indéniables entre Homme et animaux, leurs nombreuses ressemblances ne sont pas à négliger ; et regrette l'anthropocentrisme omniprésent chez ses contemporains.

[162] CHAPOUTHIER, « L'évolution de l'expérimentation animale : Claude Bernard et la période-clé du XIXe siècle »; MAURIN-BLANCHE, « L'expérimentation animale au cours du temps : un beau sujet de controverse ».
[163] JEAN-LOUIS, « Fondements philosophiques et juridiques du droit de l'animal ».

> *« La présomption est notre maladie naturelle et originelle. […] C'est par la vanité de cette même imagination qu'il s'égale à Dieu, qu'il s'attribue les conditions divines, qu'il se trie soi-même et sépare de la presse des autres créatures, taille les parts aux animaux ses confrères et compagnons, et leur distribue telle portion de facultés et de forces que bon lui semble. Comment connaît-il, par l'effort de son intelligence, les branles internes et secrets des animaux ? par qu'elle comparaison d'eux à nous conclut-il la bêtise qu'il leur attribue ? »*[164]

Il est ainsi l'un des premiers à affirmer clairement que la cruauté envers les animaux est un mal en soi, peu de temps après des préoccupations similaires chez Léonard de Vinci. Ils ne furent cependant que les quelques exceptions d'une société peu soucieuse de la condition animale.

*Théorie de « l'animal-machine »*

Le cartésianisme acheva à cette époque de rabaisser le statut de l'animal en le comparant à une somme de mécaniques bien huilées répondant parfaitement à une fonction précise, sans autre liberté que de suivre son instinct.

> *« Je sais bien que les bêtes font beaucoup de choses mieux que nous, mais je ne m'en étonne pas, car cela même sert à prouver qu'elles agissent naturellement par ressorts ainsi qu'une horloge, laquelle montre bien mieux l'heure que notre jugement ne nous l'enseigne. »*[165]

Les animaux n'ont pas d'âme selon Descartes. Ils ne sont, comme les machines, qu'assemblages de rouages, dénués de pensée et de conscience. Seules leurs pulsions dictent leur comportement, contrairement à l'Homme qui est doué d'un libre-arbitre.

Les expériences sur les animaux permettent à cette époque d'établir des liens entre la structure et la fonction. Elles ne sont encore que peu présentes mais on peut par exemple citer les travaux de Vésale, Colombo, Eustache, Harvey ou Fallope[166].

## 1.4. L'animal au XIXème et au XXème siècles

Le XIXème siècle peut être considéré comme le siècle de la naissance véritable de l'expérimentation animale. Claude Bernard fut l'un des précurseurs dans ce domaine, et il y a fort à parier que les travaux de Charles Darwin jouèrent un rôle essentiel dans la façon de percevoir le vivant.

*Claude Bernard et les prémices de l'expérimentation animale moderne*[167]

Claude Bernard est considéré comme le premier défenseur de l'expérimentation animale avec comme objectif l'approfondissement des connaissances physiologiques et médicales. Selon lui, ce domaine de la recherche est essentiel à une bonne compréhension du fonctionnement du corps humain. Cependant, il n'a que peu de préoccupation de la sensibilité animale.

---

[164] MONTAIGNE, *Les Essais*.
[165] DESCARTES, « Lettre au marquis de Newcastle ».
[166] CHAPOUTHIER, « L'évolution de l'expérimentation animale : Claude Bernard et la période-clé du XIXe siècle ».
[167] Ibid.; BERNARD, *Introduction à la médecine expérimentale*.

> *Il est essentiellement moral de faire sur un animal des expériences quoique douloureuses et dangereuses pour lui, dès qu'elles peuvent être utiles pour l'homme.*
>
> *Le physiologiste n'est pas un homme du monde, c'est un savant [...] il n'entend plus les cris des animaux [...] il ne voit que son idée [...] et n'aperçoit que des organismes qui lui cachent des problèmes qu'il veut découvrir.*

Pour lui, l'approfondissent des connaissances est indispensable, et toute éventuelle souffrance animale n'y change rien : la fin justifie les moyens. La compréhension de mécanismes physiologiques fut incontestablement permise par les expériences de Claude Bernard. En revanche, il parait aujourd'hui impensable d'envisager une approche similaire.

### *Le Darwinisme : une évolution à plusieurs dimensions*[168]

> *« Après Darwin, nous ne pouvons plus penser que nous occupons une place spéciale au sein de la création — il nous faut au lieu de cela prendre conscience de ce que nous sommes les produits des mêmes forces évolutives qui, œuvrant aveuglément et sans but, façonnèrent le reste du règne animal. »*[169]

Avec sa théorie de l'évolution, Darwin a contribué à rebattre les cartes d'un univers dont l'Homme pensait être le maître. Les ressemblances avec les autres espèces animales ne sont pas uniquement morphologiques, telles que les biologistes les considéraient jusqu'à présent, mais existent aussi sur le plan psychologique et émotionnel. La théorie de « l'animal-machine » si longtemps utilisée depuis Descartes est malmenée par ces nouvelles découvertes.

L'expérimentation animale, alors en plein essor, va donc se retrouver confrontée à un problème éthique jusqu'alors souvent ignoré : puisque les différences entre Homme et animal ne sont qu'une histoire de degré, comment justifier la réalisation d'expérience sur des êtres sensibles et pensants ?

### *L'éthique absolue d'Albert Schweitzer*[170]

Albert Schweitzer est un médecin et pasteur ayant exercé en Afrique au début du XXème siècle. Il se distingua par son extension du message d'amour chrétien au domaine des animaux. Sa vision éthique inclut toutes les formes de vie, qui doivent être respectées.

> *« Chaque fois que je détériore une vie quelconque, il faut que je me pose clairement la question de savoir si c'est nécessaire. Jamais je ne devrai m'autoriser à aller au-delà de ce qui est indispensable, même dans des cas apparemment insignifiants. »*[171]

> *« Lorsqu'un animal est contraint d'être utilisé pour les besoins de l'homme, chacun de nous doit se préoccuper des souffrances qui en résultent pour lui. Nul ne doit permettre d'occasionner une douleur que rien ne peut justifier, dans toute la mesure où il peut l'empêcher. »*[172]

---

[168] COUTURIER, « Les implications morales du darwinisme ».
[169] RACHELS, *Created From Animals - The Moral Implications of Darwinism*.
[170] JEAN-LOUIS, « Fondements philosophiques et juridiques du droit de l'animal ».
[171] SCHWEITZER, *La civilisation et l'éthique*.
[172] SCHWEITZER, *Ma vie et ma pensée*.

Dans l'éthique de Schweitzer, l'utilité de l'acte pèse dans la balance. Ainsi, il ne dénonce pas l'expérimentation animale, mais appelle à une réflexion sur sa légitimité au cas par cas.

> *« Ceux qui expérimentent sur les animaux des médicaments, procédant à des opérations chirurgicales ou inoculant des maladies dont les résultats serviront à venir en aide à l'humanité, ne doivent jamais se livrer à des traitements cruels en toute tranquillité d'esprit sous le prétexte que leur but est d'envergure. Dans chaque cas particulier, il faut qu'ils aient auparavant pesé la question de savoir si faire subir ce sacrifice à l'animal pour l'humanité s'impose vraiment. »* [173]

En cela, il se distingue clairement du discours de Claude Bernard pour qui la cause excusait les dommages collatéraux.

*L'antispécisme de Peter Singer*[174]

Peter Singer est un philosophe australien utilitariste contemporain très influent, notamment en matière d'expérimentation animale. Il a publié en 1975 son ouvrage de référence dans le domaine de la protection animale : *La libération animale*.

Peter Singer dénonce ainsi la considération inégale des intérêts des animaux et prône l'antispécisme afin de rapporter toutes les espèces au même niveau d'impartialité.

> *« La discrimination exercée contre les animaux uniquement sur la base de leur espèce est une forme de préjugé, forme immorale et indéfendable, de la même façon qu'est immorale et indéfendable la discrimination sur la base de la race. »*[175]

C'est la sensibilité qui détermine la dignité d'un être. Tout être sensible, quel qu'il soit, a le même intérêt que les autres à éviter un traitement conduisant à une souffrance. C'est cette sensibilité qui est importante et non l'intelligence par exemple.

Il ne faut cependant pas en déduire que les Hommes sont identiques aux animaux. Il est évident que certains êtres souffrent plus que d'autres dans des conditions données. Selon Singer, un animal condamné à mort souffrira moins de l'attente qu'un être humain puisque qu'il ne pourra pas l'anticiper. En revanche, en cas d'enfermement provisoire, il est possible de faire comprendre à l'Homme que la situation ne durera pas, ce qui n'est pas le cas pour l'animal. Ce dernier souffrira donc plus de cette situation. Il est en de même concernant l'intensité d'un stimulus qui pourra être douloureux chez une espèce et indolore chez une autre.

S'il est présenté en défenseur des droits des animaux, Peter Singer ne refuse pas pour autant l'expérimentation animale, ni même l'expérimentation humaine par ailleurs. Sa visée est utilitariste. Si utiliser une centaine d'animaux est nécessaire pour sauver des milliers d'humains, alors il est justifiable de le faire, à condition de réduire la souffrance engendrée au maximum et qu'il n'y ait pas d'autres moyens. Là où le discours de Peter Singer fait polémique, c'est que, si dans la même situation, il fallait utiliser des êtres humains, l'expérience ne serait pas moins justifiable.

---

[173] SCHWEITZER, *La civilisation et l'éthique*.
[174] SINGER, *La libération animale*.
[175] Ibid.

## 2. ANNEXES RELATIVES À LA PREMIÈRE PARTIE

### 2.1. Annexe VIII de la directive 2010/63/UE[176]

**CLASSIFICATION DES PROCÉDURES SELON LEUR DEGRÉ DE GRAVITÉ**

Le degré de gravité d'une procédure est déterminé en fonction de l'intensité de la douleur, de la souffrance, de l'angoisse ou du dommage durable qu'un animal donné risque de subir au cours de la procédure.

**Section I : Classes de gravité**

- ***Sans réanimation :*** Les procédures menées intégralement sous anesthésie générale, au terme desquelles l'animal ne reprend pas conscience, relèvent de la classe « sans réanimation ».
- ***Légère :*** Les procédures en raison desquelles les animaux sont susceptibles d'éprouver une douleur, une souffrance ou une angoisse légère de courte durée, ainsi que celles sans incidence significative sur le bien-être ou l'état général des animaux, relèvent de la classe « légère ».
- ***Modérée :*** Les procédures en raison desquelles les animaux sont susceptibles d'éprouver une douleur, une souffrance ou une angoisse modérée de courte durée ou une douleur, une souffrance ou une angoisse légère de longue durée, ainsi que celles susceptibles d'avoir une incidence modérée sur le bien-être ou l'état général des animaux, relèvent de la classe « modérée ».
- ***Sévère :*** Les procédures en raison desquelles les animaux sont susceptibles d'éprouver une douleur, une souffrance ou une angoisse intense ou une douleur, une souffrance ou une angoisse modérée de longue durée, ainsi que celles susceptibles d'avoir une incidence grave sur le bien-être ou l'état général des animaux, relèvent de la classe « sévère ».

[176] Parlement européen et Conseil de l'Union Européenne, *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*.

## 2.2. Annexe du document de travail sur les animaux génétiquement modifiés[177]

***Tableau 10 :*** *Les éléments clés du système d'évaluation du bien-être des rongeurs génétiquement modifiés*

| Critère | Ce qu'il faut chercher |
|---|---|
| **Apparence générale** | L'animal est morphologiquement « normal » ? Y a-t-il des malformations ou tout autre indicateur que le phénotype est affecté ? Déformations squelettiques ou hydrocéphalie par exemple. |
| **Croissance, conformation et taille** | Y a-t-il des écarts par rapport aux courbes de taille ou de croissance attendues ? |
| **État du pelage** | Piloérection, zones d'alopécie, perte de moustaches, « barbering » ? Peau / pelage en bon état ? |
| **Comportement, Posture, démarche, activité et interactions avec l'environnement** | Répertoire complet des comportements correspondant à la souche/espèces, y compris interactions sociales, toilettage, marche/course, creusement, escalade ? Sont-ils normaux ? Animal voussé ou réticent à se déplacer ? Mouvement altéré ou désorientation ? Signes de raideurs ou de tremblements ? Niveau d'activité anormal ? Une inactivité prolongée pourrait indiquer un stress chronique ou de dépression et/ou une maladie/douleur, particulièrement si liée avec une posture voussée ou un pelage piqué. Des activités inhabituelles, telles qu'une l'hyperactivité, pourraient indiquer une stéréotypie ou d'autres anomalies comportementales. |
| **Signes cliniques** | Par exemple - écoulement nasal ou oculaire, yeux enflés ou fermées ; augmentation de la fréquence respiratoire ; dyspnée ; crises épileptiques/secousses/tremblements ; augmentation de vocalisation lors des manipulations ; malocclusion dentaire ; présence de tumeurs, anomalie neurologique ou musculo-squelettiques. Le métabolisme est-il altéré, par exemple, augmentation ou diminution de la prise d'eau ou de nourriture, miction excessive ? Consistance des selles. |
| **Taille relative** | Changement inhabituel dans la taille des animaux, à comparer avec les autres portées. Il peut être utile générer une courbe de croissance pour la lignée. |
| **Nombre** | En cas de décès, il est important de tenir des registres précis comprenant les pertes avant ou après le sevrage avec possibilité d'investigation. Le cas échéant (par exemple taux de mortalité prévu dépassé), des examens post-mortem doivent être effectués afin de déterminer la cause du décès. Un examen de fertilité peut également être utile pour évaluer si oui ou non la modification a un effet. |

**Considérations supplémentaires pour l'évaluation des animaux nouveau-nés**

| | |
|---|---|
| **Couleur des petits (pour nouveau-né uniquement)** | Petits montrant des signes de couleur de peau anormale (anémie, mauvaise circulation, etc.) |
| **Activité des petits (pour nouveau-né uniquement)** | Par exemple, toute activité anormale, réduction des mouvements ? Réflexe de redressement présent ? |
| **« Milk spot » (pour nouveau-né uniquement)** | Les petits ne présentent pas de « milk spot » ? Aucune preuve de mauvais maternage ? |
| **Portée** | Taille de la portée ; homogénéité de la portée ; développement la croissance des petits |

[177] Groupes de travail d'experts de la Comission Européenne, *Key elements of a GA rodent welfare assessment scheme*.

## 2.3. Degré de gravité des contraintes[178]

***Tableau 11 :*** *Degrés de contraintes réglementaires concernant les rongeurs de laboratoire*

| **Art. 24 Catégorisation de la contrainte causée par des interventions ou des mesures dans le cadre de l'expérience**<br>Les contraintes causées par des interventions ou des mesures effectuées dans le cadre d'une expérience sur animaux sont classées dans l'une des quatre catégories suivantes : | **Art. 25 Catégorisation des contraintes causée par une modification génétique**<br>Les contraintes causées par des modifications génétiques sont classées en quatre catégories : |
|---|---|
| a. *degré de gravité 0 – absence de contrainte :* interventions et manipulations sur des animaux dans un but expérimental qui n'occasionnent aux animaux ni douleur, ni mal, ni dommage, qui ne provoquent pas d'anxiété et qui ne perturbent pas leur bien-être général | a. *degré de gravité 0 – absence de contrainte :* modifications génétiques qui n'occasionnent aux animaux ni douleur, ni mal, ni dommage, qui ne leur provoquent pas d'anxiété et qui ne perturbent pas leur bien-être général |
| b. *degré de gravité 1 – contrainte légère :* interventions et manipulations sur des animaux dans un but expérimental qui occasionnent aux animaux des douleurs ou des dommages soit légers et de courte durée, soit qui perturbent légèrement leur bien-être général | b. *degré de gravité 1 – contrainte légère :* modifications génétiques qui occasionnent aux animaux des douleurs ou des dommages légers ou qui perturbent légèrement leur bien-être général |
| c. *degré de gravité 2 – contrainte moyenne :* interventions et manipulations sur des animaux dans un but expérimental qui occasionnent aux animaux des douleurs, des maux ou des dommages soit de degré moyen et de courte durée, soit légers et de durée moyenne à longue, soit une anxiété moyenne de courte durée, soit une perturbation notable et de durée courte ou moyenne de leur bien-être général | c. *degré de gravité 2 – contrainte moyenne :* modifications génétiques qui occasionnent aux animaux des douleurs, des maux ou des dommages de degré moyen, une anxiété ou une perturbation de leur bien-être général |
| d. *degré de gravité 3 – contrainte sévère :* interventions et manipulations sur des animaux dans un but expérimental qui occasionnent aux animaux soit de grandes douleurs, soit des douleurs d'intensité moyenne et de durée moyenne à longue, soit des maux d'intensité moyenne à grande et de longue durée, soit des dommages importants, soit des dommages de gravité moyenne et de durée moyenne à longue, soit une grande anxiété de longue durée, soit une perturbation notable de leur bien-être général | d. *degré de gravité 3 – contrainte sévère :* modifications génétiques qui occasionnent aux animaux de grandes douleurs, des maux de longue durée, des dommages importants, une grande anxiété ou une perturbation importante de leur bien-être général |
| **Art. 26 Contraintes à prendre en compte pour l'évaluation de la proportionnalité d'une expérience**<br>Pour l'évaluation de la proportionnalité d'une expérience, il sera tenu compte des contraintes visées à l'art. 24 et 25 et des autres contraintes subies par les animaux du fait de leur avilissement, d'interventions profondes dans leur phénotype ou dans leurs aptitudes, ou d'une instrumentalisation excessive. | |

[178] Conseil fédéral suisse, *Ordonnance sur la protection des animaux (OPAn)*; Office fédéral de la sécurité alimentaire et des affaires vétérinaires, *Ordonnance de l'OSAV concernant la détention des animaux d'expérience, la production d'animaux génétiquement modifiés et les méthodes utilisées dans l'expérimentation animale*.

## 2.4. Expérimentation animale en Suisse

### 2.4.1. Statistiques de l'OSAV concernant l'année 2015

***Tableau 12 :*** *Nombre d'animaux expérimentaux selon les espèces animales et le domaine d'utilisation*[179]

| | Recherche biologie fondamentale | Recherche, développement et contrôle qualité | Diagnostic de maladies | Enseignement et formation | Protection par tests toxic. ou innoc. pour substances utilisées | Autres études | Total 2015 | Variation 2014-2015 | Variation 2013-2014 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Souris | 324 433 | 77 798 | 303 | 3 576 | 4 575 | 1 856 | 412 541 | **+ 5.7 %** | + 3 % |
| Rats | 24 692 | 48 252 | 505 | 1 717 | 2 962 | 6 | 78 134 | **-5.9 %** | - 9.5 % |
| Hamster | | 101 | 38 | | | | 139 | **-44.2 %** | - 31.8 % |
| Cobayes | 38 | 492 | 185 | 16 | 44 | 18 | 793 | **-18.5 %** | - 15.4 % |
| Autres rongeurs | 154 | 2 248 | 116 | | | | 2 518 | **+ 3.2 %** | - 7.9 % |
| Lapins | 445 | 143 | 4 | 29 | | 36 | 657 | **-30.9 %** | - 17.3 % |
| Chiens | 1 222 | 756 | 162 | 258 | 34 | 527 | 2 959 | **-10 %** | + 9.3 % |
| Chats | 164 | 261 | 73 | 42 | | 81 | 621 | **-21.2 %** | + 22 % |
| Primates | 76 | 103 | | 11 | 8 | | 198 | **-21.1 %** | - 22 % |
| Bovins | 749 | 327 | 208 | 1 341 | 36 | 798 | 3 459 | **-32.6 %** | + 15.8 % |
| Moutons, chèvres | 162 | 162 | 402 | 17 | | 504 | 1 247 | **-16.6 %** | + 78.7 % |
| Porcs (y compris minipigs) | 2 104 | 224 | 319 | 113 | 26 | 1 028 | 3 814 | **-17.6 %** | + 98.3 % |
| Chevaux, ânes | 418 | 55 | 173 | 200 | | 491 | 1 337 | **-6.5 %** | + 36.1 % |
| Mammifères divers | 2 977 | | | | | 109 | 3 086 | **+ 131.9 %** | - 31.7 % |
| Oiseaux (y compris volailles) | 17 041 | 94 | 4 | 64 | | 57 214 | 74 417 | **+ 19.1 %** | - 2.8 % |
| Amphibiens, reptiles | 30 073 | | 126 | 52 | | 2 102 | 32 353 | **+ 337.2 %** | - 55.5 % |
| Poissons | 46 035 | | 1 133 | 710 | 4 094 | 11 716 | 63 688 | **+ 59.7 %** | + 116.3 % |
| Invertébrés | 372 | | | | | | 372 | **-40.4 %** | + 47.5 % |
| **Total** | **451 155** | **131 016** | **3 751** | **8 146** | **11 779** | **76 486** | **682 333** | **+ 12.5 %** | **+ 2.8 %** |
| 2014 | 361 463 | 134 836 | 6 728 | 9 426 | 21 754 | 72 298 | 606 505 | | |
| Différence en % | + 24.8 % | -2.8 % | -44.2 % | -13.6 % | -45.9 % | + 5.8 % | + 12.5 % | | |

[179] Office fédéral de la sécurité alimentaire et des affaires vétérinaires (OSAV), « Statistiques sur l'expérimentation animale en Suisse ».

### 2.4.2. Chapitre 6 de l'OPAn- Expérimentation animale, animaux génétiquement modifiés et mutants présentant un phénotype invalidant

#### *Détention, élevage et commerce d'animaux d'expérience*

> ***Art. 117 - Conditions que doivent remplir les locaux et les enclos***
> ***1.*** *Les locaux et les enclos dans lesquels sont détenus les animaux d'expérience doivent être éclairés par la lumière du jour ou par une source de lumière artificielle de spectre équivalent. L'intensité de l'éclairage de la zone où se tiennent les animaux, les périodes de lumière et d'obscurité ainsi que le changement d'éclairage doivent être adaptés aux besoins des animaux. En cas d'utilisation d'une source de lumière artificielle, aucun papillotement dérangeant ne doit être perceptible.*
> ***2.*** *La température, l'humidité de l'air, l'aération et la qualité de l'eau doivent être adaptés aux besoins des animaux.*
> ***3.*** *Les locaux et les enclos doivent être conformes aux exigences de l'annexe 3 et permettre un examen de l'état de santé de tous les animaux sans les déranger de façon excessive. Si une espèce animale ne figure pas à l'annexe 3, les exigences minimales des annexes 1 et 2 sont applicables.*
> ***4.*** *Toute animalerie doit avoir à disposition, ou pouvoir utiliser, suffisamment de locaux et d'installations afin :*
> ***a.*** *de pouvoir isoler les animaux malades ou au statut sanitaire indéfini ;*
> ***b.*** *de pouvoir stocker les aliments et les autres articles tels que les produits de nettoyage et de désinfection, et éliminer correctement les animaux dans des locaux distincts de ceux où sont logés les animaux.*

> ***Art. 119 - Manière de traiter les animaux d'expérience***
> ***1.*** *Avant que ne débute l'expérience, les animaux d'expérience doivent être suffisamment accoutumés aux conditions de détention locales et aux contacts avec l'être humain, notamment aux manipulations nécessaires à l'expérience.*
> ***2.*** *Les animaux d'expérience d'espèces sociables doivent être détenus en groupes avec des congénères. La détention individuelle est admise à titre exceptionnel et pour une durée limitée.*
> ***3.*** *Des espèces animales différentes ne peuvent être détenues dans le même local que si cela ne représente pas une contrainte pour elles.*
> ***4.*** *Dans la manière de traiter les animaux d'expérience, il faut éviter de les exposer à des bruits excessifs ou soudains.*

> ***Art. 121 - Surveillance de l'état de santé***
> *Il faut surveiller l'état de santé, le bien-être et le statut sanitaire des animaux de l'animalerie.*

#### *Exécution d'expériences sur animaux*

> ***Art. 135 - Exécution des expériences***
> ***1.*** *Avant le début de l'expérience, il faut définir les événements ou les symptômes qui, s'ils apparaissent, doivent conduire l'expérimentateur à retirer l'animal de l'expérience et éventuellement à le mettre à mort (critères d'arrêt de l'expérience).*
> ***2.*** *Les animaux doivent être préalablement habitués aux conditions de l'expérience. Si un animal devient anxieux en raison de l'expérience, des mesures appropriées doivent être prises pour que l'anxiété et le stress soient maintenus le plus bas possible.*
> ***3.*** *Les animaux ne peuvent être soumis à des expériences que si l'examen de leur état de santé a permis de conclure que l'animal ne subira pas de restrictions de son bienêtre supplémentaires indépendantes du but de l'expérience.*
> ***4.*** *Le bien-être des animaux doit être contrôlé régulièrement durant la durée de l'expérience ; il doit être vérifié à une fréquence qui permette de reconnaître à temps et d'évaluer correctement les douleurs, les maux, les dommages et l'anxiété ainsi que les troubles de l'état général. Si ces effets surviennent, les animaux doivent être traités et soignés selon l'état des connaissances actuelles ; dès que le but de l'expérience le permet ou que les critères d'arrêt de l'expérience sont remplis, les animaux doivent être retirés de l'expérience et éventuellement mis à mort.*
> ***7.*** *Si après une intervention ou une mesure, les douleurs, les maux, les dommages ou l'anxiété persistent chez l'animal, ce dernier doit être mis à mort aussitôt que le but visé par l'expérience le permet, mais au plus tard lorsque les critères d'arrêt de l'expérience sont remplis.*
> ***8.*** *Lorsque les douleurs, les maux, les dommages ou l'anxiété causés à un animal par une expérience atteignent un degré élevé, ou qu'ils atteignent un degré moyen sur une durée moyenne à longue, il faut prendre des mesures appropriées pour s'assurer que l'animal ne sera pas utilisé à nouveau pour de telles expériences.*
> ***9.*** *La mise à mort d'animaux ou les mesures et interventions qui causent des douleurs, des maux, des dommages ou de l'anxiété ne doivent pas être effectuées dans les locaux où sont détenus les animaux. L'OSAV peut fixer des exceptions pour les cas où les mesures et interventions qui ne causent pas de contrainte excessive aux autres animaux détenus dans le même local, notamment en cas de marquage, d'administration d'une substance et de prélèvement d'échantillons.*

***Art. 136** - Expériences causant des contraintes aux animaux*
***1.** Les expériences causant des contraintes aux animaux au sens de l'art. 17 LPA sont celles :*
***a.** qui portent atteinte à leur bien-être ;*
***b.** qui comportent des interventions chirurgicales sur les animaux ;*
***c.** qui soumettent les animaux à des influences physiques importantes ;*
***d.** au cours desquelles des substances ou des mélanges de substances sont administrés ou appliqués aux animaux à des fins de contrôle, dont on ne connaît pas les effets sur les animaux ou dont on ne peut exclure un effet dommageable sur eux ;*
***e.** au cours desquelles des effets pathologiques sont provoqués chez les animaux ;*
***f.** au cours desquelles des animaux sont immunisés ou infectés à l'aide de micro-organismes ou de parasites et où on leur administre du matériel cellulaire ;*
***g.** dans lesquelles des animaux sont soumis à une anesthésie générale ;*
***h.** dans lesquelles les animaux sont limités dans leur liberté de mouvement de façon répétée ou prolongée, ou sont tenus isolés ;*
***i.** dans lesquelles les animaux sont détenus dans des conditions dérogeant aux dispositions concernant la détention ou les soins ;*
***j.** dans lesquelles on travaille avec des souches ou des lignées présentant un phénotype invalidant ;*
***k.** dans lesquelles sont utilisées des souches ou des lignées dont l'élevage produit plus de 80 % d'individus qui ne présentent pas les caractéristiques recherchées ou dont l'élevage n'est possible qu'au moyen d'une fécondation in vitro.*
***2.** Pour évaluer le caractère proportionné d'une expérience, l'OSAV définit des catégories de contrainte en fonction de l'importance de la contrainte.*

***Art. 137** - Critères d'évaluation du caractère indispensable des expériences causant des contraintes aux animaux*
***1.** Le requérant doit établir que le but de l'expérience :*
***a.** a un rapport avec la sauvegarde et la protection de la vie ou de la santé humaines ou animales ;*
***b.** est présumé apporter des connaissances nouvelles sur des phénomènes vitaux essentiels ; ou*
***c.** est utile à la protection de l'environnement naturel.*
***2.** Il doit en outre prouver que le but de l'expérience ne peut pas être atteint par des méthodes qui ne nécessitent pas d'expériences sur animaux et qui sont fiables en l'état actuel des connaissances.*
***3.** La méthode doit permettre, compte tenu des connaissances les plus récentes, d'atteindre le but de l'expérience.*
*Une expérience sur animaux et chacune des parties de l'expérience doivent être planifiées de manière à ce que :*
***a.** le plus petit nombre d'animaux nécessaires soit utilisé et la contrainte la plus faible possible infligée aux animaux ;*
***b.** les méthodes d'évaluation des résultats les plus adéquates et les méthodes statistiques correspondant à l'état actuel des connaissances soient appliquées ; et à ce que*
***c.** les différentes parties de l'expérience soient échelonnées dans le temps.*

### 2.4.3. Ordonnance sur l'expérimentation animale[180]

#### *Détention des animaux d'expérience*

***Art. 2** - Surveillance des animaux d'expérience*
***3.** Le bien-être des petits rongeurs est contrôlé lors de leur transfert dans des cages propres. Ces animaux feront en outre l'objet d'un examen visuel trois fois par semaine au moins. Il n'est pas nécessaire de contrôler l'état de l'environnement et le bien-être des petits rongeurs durant les week-ends si des données concrètes sur la surveillance passée attestent que les animaux ne pâtissent pas de l'absence de contrôle.*
***5.** En cas de constatation d'une contrainte chez un animal, celle-ci sera signalée sur la cage ou l'enclos par l'apposition de marques distinctives.*
***6.** La fréquence des contrôles visée aux al. 2 et 3 sera augmentée en fonction de la contrainte subie par les animaux.*
***7.** Les résultats des contrôles effectués sont à consigner dans un procès-verbal.*

***Art. 7** - Documentation*
***2.** Dans les locaux de l'animalerie, il sera indiqué clairement pour chaque animal qui est responsable du respect des dispositions sur la protection des animaux.*
***3.** La documentation relative à la caractérisation de la contrainte et aux critères d'arrêt de l'expérience doit être accessible au personnel à tout moment.*

[180] Office fédéral de la sécurité alimentaire et des affaires vétérinaires, *Ordonnance de l'OSAV concernant la détention des animaux d'expérience, la production d'animaux génétiquement modifiés et les méthodes utilisées dans l'expérimentation animale*.

## *Caractérisation et documentation de la contrainte, et procédure de déclaration*

> ***Art. 12 - Principes applicables à la caractérisation de la contrainte chez les petits rongeurs***
> ***1.*** *La caractérisation de la contrainte chez les petits rongeurs sera documentée. Seront ainsi consignés :*
> ***a.*** *les résultats des contrôles visés à l'annexe 4 ;*
> ***b.*** *la date et l'heure des contrôles ainsi que le nom de la personne qui les a effectués.*
> ***2.*** *La fréquence des contrôles et les signes particuliers à rechercher seront réexaminés au fur et à mesure sur la base des résultats de la surveillance ou de l'expérience.*
> ***3.*** *Les mesures réduisant la contrainte et les critères d'arrêt de l'expérience seront appliqués sans délai. Cette application sera documentée.*

## *Détermination du degré de gravité de la contrainte*

> ***Art. 24 - Catégorisation de la contrainte causée par des interventions ou des mesures dans le cadre de l'expérience***
> *Les contraintes causées par des interventions ou des mesures effectuées dans le cadre d'une expérience sur animaux sont classées dans l'une des quatre catégories suivantes :*
> ***a. degré de gravité 0*** *– absence de contrainte : interventions et manipulations sur des animaux dans un but expérimental qui n'occasionnent aux animaux ni douleur, ni mal, ni dommage, qui ne provoquent pas d'anxiété et qui ne perturbent pas leur bien-être général ;*
> ***b. degré de gravité 1*** *– contrainte légère : interventions et manipulations sur des animaux dans un but expérimental qui occasionnent aux animaux des douleurs ou des dommages soit légers et de courte durée, soit qui perturbent légèrement leur bien-être général ;*
> ***c. degré de gravité 2*** *– contrainte moyenne : interventions et manipulations sur des animaux dans un but expérimental qui occasionnent aux animaux des douleurs, des maux ou des dommages soit de degré moyen et de courte durée, soit légers et de durée moyenne à longue, soit une anxiété moyenne de courte durée, soit une perturbation notable et de durée courte ou moyenne de leur bien-être général ;*
> ***d. degré de gravité 3*** *– contrainte sévère : interventions et manipulations sur des animaux dans un but expérimental qui occasionnent aux animaux soit de grandes douleurs, soit des douleurs d'intensité moyenne et de durée moyenne à longue, soit des maux d'intensité moyenne à grande et de longue durée, soit des dommages importants, soit des dommages de gravité moyenne et de durée moyenne à longue, soit une grande anxiété de longue durée, soit une perturbation notable de leur bien-être général.*

## *Annexe 4*

***Tableau 13 :*** *Caractérisation de la contrainte chez les lignées de petits rongeurs génétiquement modifiées et chez les mutants présentant un phénotype invalidant*

| | Contrôles du nid (art. 14, al. 2 et 15, al. 2) | Contrôles lors du changement de cage (art. 14, al. 1 et 15, al. 2) |
|---|---|---|
| Nombre de jeunes, couleur, différences de taille | X | X |
| Prise d'aliments (milk spot) | X | |
| État de santé général (taille, tonus, état nutritionnel, etc.) | X | X |
| Malformations visibles à l'œil nu | X | X |
| Nombre d'animaux morts, cannibalisme, examen post-mortem le cas échéant | X | X |
| Autres signes marquants, comme p.ex. plaies dues à une morsure | X | X |
| Symptômes cliniques (tremblements, crampes, boiterie, etc.) | X | X |
| Selon le type de la modification génétique : autres signes morphologiques particuliers | X | X |
| Comportement durant le changement de cage (apathie, frayeur, etc.) | | X |
| Construction du nid, état du nid | | X |
| Pelage, yeux, orifices corporels | | X |

## 2.5. Formulaires réglementaires

### 2.5.1. Formulaire M

# Form-M V1.01

## Annonce des contraintes observées chez les lignées

N° . . . . . .
(laisser en blanc)

Art. 12 de la loi sur la protection des animaux (LPA), art. 126 de l'ordonnance sur la protection des animaux (OPAn) et art. 17, 18 et 22 de l'ordonnance sur l'expérimentation animale (OExAn)

| | | |
|---|---|---|
| **Type d'annonce** | ☐ **Nouvelle annonce** | ☐ **Complément** relatif à la décision n°: |

### A. Autorité cantonale

| | |
|---|---|
| Nom, adresse | |

### B. Nom de la lignée et directeur de l'expérience / possesseur de la lignée

| | |
|---|---|
| B1<br>**Nom de la lignée**<br><br>(selon la fiche technique) | |
| B2<br>**Directeur de l'expérience / possesseur de la lignée animale (de la population locale)**<br><br>Nom, prénom, institut, adresse, courriel, tél | |

### C. Informations relatives à l'animalerie

| | |
|---|---|
| C1<br>**Numéro d'autorisation de l'animalerie** | (le cas échéant le numéro de l'autorisation selon l'art. 142 OPAn, Form-G: ) |
| C2<br>**Responsable de l'animalerie**<br><br>Nom, prénom, adresse, courriel, tél. | |
| C3<br>**Lieu de situation de l'animalerie**<br><br>Adresse | |

### D. Annonce

Des informations différentes seront faites en fonction du type de l'annonce : annonce provisoire (*art. 17 OExAn*) ou définitive (art. 18 OExAn) des contraintes observées chez des rongeurs de petite taille ou annonce des contraintes observées chez des lignées de poissons (art. 22 OExAn). Dans tous les cas, il faut annexer la fiche technique relative à la lignée génétiquement modifiée ou au mutant présentant un phénotype invalidant (*art. 23 OExAn*).

*Juli 2011*

| | |
|---|---|
| D1<br>**Type d'annonce** | ☐ Annonce provisoire des contraintes observées chez des rongeurs de petite taille (art. 17 OExAn)<br>☐ Annonce définitive des contraintes observées chez des rongeurs de petite taille (art. 18 OExAn)<br>☐ Annonce définitive de contraintes observées chez des lignées de poissons (art. 22 OExAn) |
| D2<br>**Informations scientifiques de base** (annexe 2 OExAn)<br>*(Ces informations sont à inscrire au chapitre D de la fiche technique relative à la lignée génétiquement modifiée ou au mutant présentant un phénotype invalidant, fiche technique à annexer à la présente)* | |

*Informations à fournir dans le cas d'une **annonce provisoire** (art. 17 OExAn):*

| | |
|---|---|
| D3<br>Description précise des **contraintes observées** dans le cadre du résumé de la caractérisation de la contrainte *(Ces informations sont à inscrire aux chapitres E2 et E3 de la fiche technique relative à la lignée génétiquement modifiée ou au mutant présentant un phénotype invalidant, fiche technique à annexer à la présente)* | |
| D4<br>**Mesures diminuant la contrainte** prévues ou prises et leurs effets attendus *(ces informations sont à inscrire aux chapitre E4 et E5 de la fiche technique relative à la lignée génétiquement modifiée ou au mutant présentant un phénotype invalidant)* | |
| D5<br>**Observations complémentaires envisagées suite à l'annonce.** | |

*Informations à fournir dans le cas d'une **annonce définitive** (art. 18 OExAn) et d'une **annonce des contraintes observées chez des lignées de poissons** (art. 22 OExAn):*

| | |
|---|---|
| D6<br>**Plan d'observation des animaux** | |
| D7<br>**Résultats de la caractérisation de la contrainte, y compris le degré de contrainte**<br>*(Ces informations sont à inscrire aux chapitres E2 et E3 de la fiche technique relative à la lignée génétiquement modifiée ou au mutant présentant un phénotype invalidant, fiche technique à annexer à la présente)* | |
| D8<br>**Mesures diminuant la contrainte** à appliquer et leurs effets *(Ces informations sont à inscrire aux chapitres E4 et E5 de la fiche technique relative à la lignée génétiquement modifiée ou au mutant présentant un phénotype invalidant)* | |
| D9<br>**Elevage d'animaux et utilisation dans des expériences**<br>• Nombre d'animaux élevés visé<br>• Nombre d'animaux qu'il est prévu d'utiliser dans des expériences<br>• Gain de connaissances visé et utilité potentielle de l'expérience | |

| | |
|---|---|
| D10<br>**Pesée des intérêts**<br>entre<br>• la gravité des contraintes observées chez les animaux (D7) et<br>• l'utilité potentielle de la lignée pour la recherche, le traitement ou le diagnostic et probabilité que cette utilité soit réalisée (D9) | |

## E. Remarques

## F. Signatures

Le ou la **directeur de l'expérience / possesseur de la lignée** (selon chiffre B) soussigné/e certifie que les informations fournies ci-dessus sont complètes et exactes:

Date: Nom et signature: . . . . . .

Le ou la **responsable d'animalerie** (art. 114 OPAn)

Date: Nom et signature: . . . . . .

Annexes: *- fiche technique relative à la lignée génétiquement modifiée ou au mutant présentant un phénotype invalidant, (Art. 23 OExAn)*
-

### 2.5.2. Fiche technique AGM

**V1.0**

# Fiche technique pour lignées génétiquement modifiées
## (AGM - avec ou sans phénotype invalidant)
## ou mutants présentant un phénotype invalidant

Art. 23 et 28 de l'ordonnance sur l'expérimentation animale (OExAn)

### A. Décision de l'autorité cantonale (art. 127 de l'ordonnance sur la protection des animaux OPAn)

| | |
|---|---|
| **Décision de l'autorité cantonale**<br>concernant la contrainte et la poursuite de la production de la lignée | ☐ Examen de la lignée en cours (pas de décision de l'autorité)<br>☐ Lignée ne présentant pas de phénotype invalidant (pas de décision de l'autorité)<br>☐ Lignée présentant un phénotype invalidant.- La décision de l'autorité est annexée:<br>Date: Numéro Degré de contrainte maximal: |

### B. Directeur de l'expérience / Possesseur de la lignée animale

| | |
|---|---|
| **Directeur de l'expérience / Possesseur de la lignée animale**<br>(de la population locale)<br>Nom, prénom, institut, adresse, courriel, tél. | |

### C. Informations relatives à l'animalerie (art. 114 OPAn)

| | |
|---|---|
| **C1**<br>**Numéro d'autorisation de l'animalerie** | (le cas échéant numéro de l'autorisation selon l'art. 142 OPAn, Form-G: ) |
| **C2**<br>**Responsable de l'animalerie**<br>Nom, prénom, adresse, courriel, tél. | |
| **C3**<br>**Lieu où se situe l'animalerie**<br>Adresse | |

### D. Informations scientifiques de base (annexe 2 OExAn)

| | |
|---|---|
| **D1**<br>**Espèce animale** | |
| **D2**<br>**Nom de la lignée**<br>(suivant la nomenclature : http://www.informatics.jax.org/mgihome/nomen/ ) | |

*Mai 2011*

| | |
|---|---|
| **D3**<br>**Modification génétique**<br>• Type de modification génétique<br>• Informations bibliographiques (littérature)<br>• Référence de banque de données<br>• **But de la production de la lignée** | |
| **D4**<br>**Production**<br>• Producteur<br>• Méthode de production<br>• Année de production<br>• Nombre de générations<br>• Etat de l'élevage (en cours, suspendu, cryoconservé) | |
| **D5**<br>**Génotype**<br>• Génotype<br>• Fond génétique<br>• Statut sanitaire | |

## E. Résumé de la caractérisation de la contrainte (annexe 3 OExAn)

| | |
|---|---|
| **E1**<br>**Stade de l'évaluation des de caractérisation de la contrainte** | ☐ en cours<br>☐ en cours / la contrainte a été notifiée de manière provisoire<br>☐ achevée, la lignée ne présente pas de phénotype invalidant<br>☐ achevée / la contrainte a été notifiée de manière définitive ; la décision de l'autorité est en suspens<br>☐ achevée / la lignée présente un phénotype invalidant selon la décision de l'autorité (cf. chapitre A) |
| **E2**<br>**Caractérisation de la contrainte**<br>• Étendue des observations faites<br>• Comparaison des taux de mortalité et de reproduction avec celles du wildtype | |

| | |
|---|---|
| **E3**<br>**Phénotype**<br>• Description du phénotype et de la contrainte<br>• Évaluation de la contrainte<br>• **Degré de contrainte et âge des animaux lors de l'apparition de la contrainte**<br>• Expression du transgène (dominante/récessive, conditionnelle, inductible) | degré de contrainte effectif maximal (rétrospectif): |
| **E4**<br>**Atténuation de la contrainte**<br>• Besoins spécifiques<br>• Mesures d'atténuation de la contrainte et effets attendus de ces mesures | |
| **E5**<br>**Critères d'euthanasie**<br>Pour les individus présentant un phénotype invalidant | |

## F. Remarques

## G. Date et auteur des modifications apportées à cette fiche technique

| Date | Auteur | Modification du contenu / motif de la modification |
|---|---|---|
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |

### 2.5.3. Formulaire CH

# Form-CH V0.91

## Annonce relative à l'animalerie

Nr.

## pour l'année

Art. 145, al. 1 de l'ordonnance sur la protection des animaux (OPAn), article 29 de l'ordonnance sur l'expérimentation animale

### A. Responsable de l'animalerie

| | |
|---|---|
| Nom, prénom, adresse, courriel, tél. | |

### B. Autorité cantonale

| | |
|---|---|
| Nom, adresse | |

### C. Nombre d'animaux

Les lignées présentant un phénotype invalidant doivent être répertoriées une à une. Le nom de la lignée doit être le même que celui figurant sur la fiche technique correspondante. Les lignées n'ayant pas de phénotype invalidant peuvent être répertoriées par espèce animale.

Indication du nombre total d'animaux produit au moment du sevrage au sein d'une même lignée.

| Espèce animale | Génétique-ment modifiée | S'il s'agit d'une lignée présentant un phénotype invalidant: **nom de la lignée** (=ce nom doit être le même que celui figurant sur la fiche technique.) | Nombre d'**animaux nés** dans l'animalerie, déterminé au moment du sevrage | Nombre d'**animaux importés** |
|---|---|---|---|---|
| | ☐ | | | |
| | ☐ | | | |
| | ☐ | | | |
| | ☐ | | | |

### D. Remarques

### E. Signature

Le/la sous-signé/e **responsable de l'animalerie** (art. 114 OPAn) certifie que les informations mentionnées ci-dessus sont complètes et exactes.

Date: . . . . . Nom et signature: . . . . . .

Annexes:

*Stand 9 mars 2011*

# 3. ANNEXES RELATIVES À LA DEUXIÈME PARTIE

## 3.1. Historique[181]

Même si la notion d'hérédité est connue depuis longtemps, ce n'est qu'au XIX siècle qu'elle fut traduite sous forme de loi grâce à la réalisation de croisements de différentes variétés de petit pois.

En 1909 fut introduit le terme de « gène ». Il s'agissait alors d'une théorie non démontrée. Les recherches portant sur la structure et le fonctionnement de l'information génétique vont alors se succéder.

L'Acide désoxyribonucléique (ADN), sera identifié en 1944 par l'équipe d'Avery et sa structure découverte en 1953.

Durant les années soixante, le lien entre ADN et protéine est enfin déchiffré. Le code génétique permet de traduire les gènes en protéines. Quelques années plus tard sera identifié un intermédiaire instable entre ADN et protéines : les acides ribonucléiques messagers ($ARN_m$).

À la suite de cela, les recherches génétiques ont permis d'établir que le modèle « gène ➔ protéine » n'était pas aussi simple. L'existence de séquences régulatrices, de séquences non codantes, de réappariement, etc., nous ont donné un aperçu de l'étendue de la complexité de l'information génétique.

Les premières expériences de transgénique furent réalisées sur des bactéries en 1973 et des méthodes de génie génétique, telle que la PCR (« polymerase chain reaction » (réaction en chaîne par polymérase)), furent développées. Ces différentes avancées permirent la publication d'une cartographie du génome humain en 2000.

[181] CREPIN, *Expression des gènes et génie génétique*.

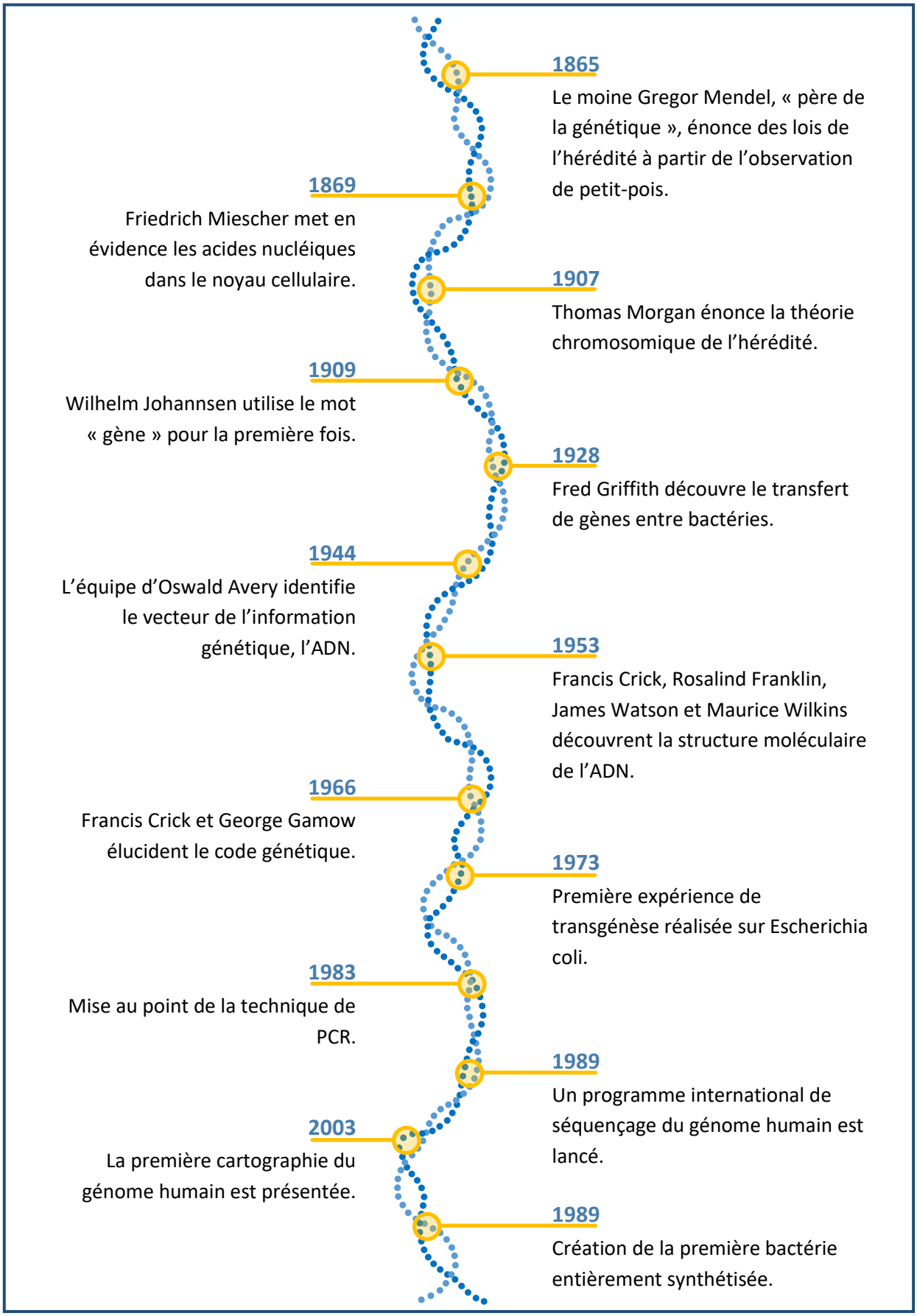


***Figure 54 :*** *Dates clés de l'histoire de la génétique* [182]

[182] McLAREN, « Cloning: Pathways to a Pluripotent Future »; Ministère de la recherche, « OGM - Enjeux des recherches »; Genopole, « Histoire de la génétique ».

## 3.2. Rappels de génétique

### 3.2.1. L'ADN, support de l'information génétique[183]

L'ADN est une macromolécule bicaténaire à structure en double hélice.

Le nucléotide est l'unité de l'ADN. Il en existe 4 types et sont constitués de 3 groupements chimiques *(Figure 55)*.

- Un pentose (désoxyribose)
- Un groupement phosphate (mono, di ou triphosphate)
- Une base azotée :
  - Puriques : Adénine (A) et Cytosine (C)
  - Pyrimidiques : Thymine (T) et Guanine (G)

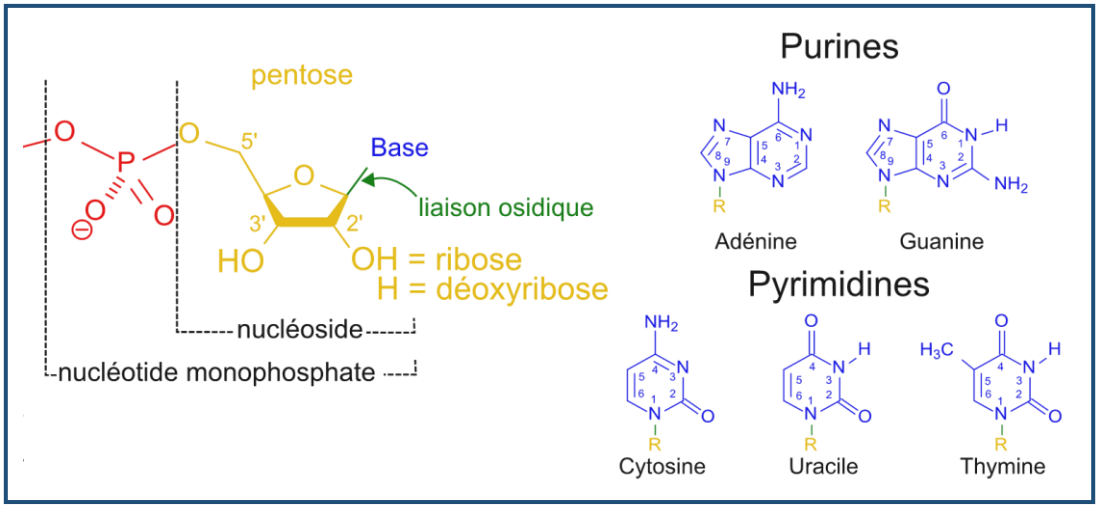


***Figure 55 :*** *Structure moléculaire des nucléotides composant l'ADN*[184]

L'enchainement des groupements phosphates et désoxyribose des différents nucléotides forme le squelette phosphodiester de la molécule d'ADN *(Figure 56)*.

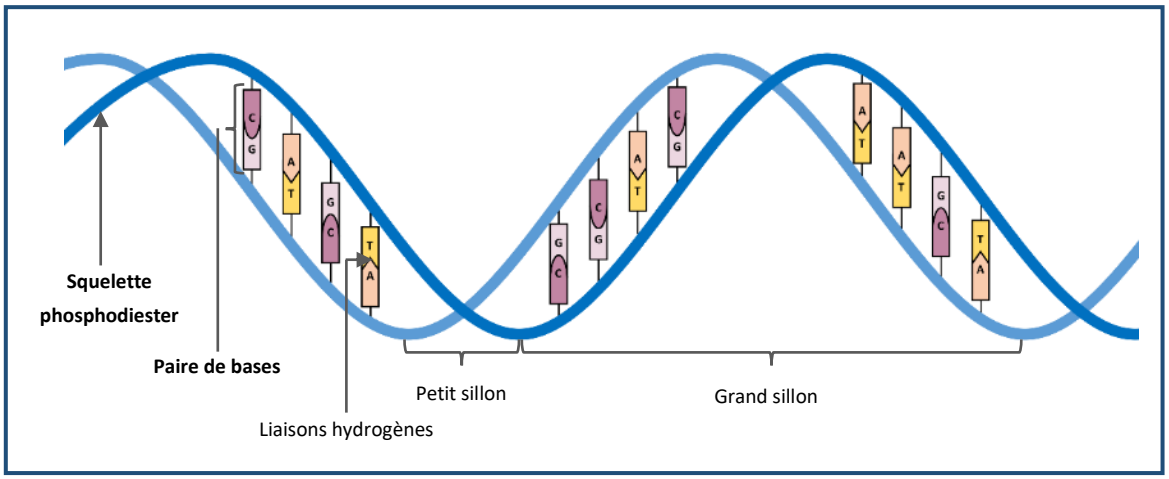


***Figure 56 :*** *Représentation schématique de l'ADN et de ses constituants*

[183] CREPIN, *Expression des gènes et génie génétique*.
[184] Boris, Wikimedia Commons, *Nucleotides 1 FR*.

Les brins sont maintenus par des liaisons faibles, les liaisons hydrogènes, entre des nucléotides appariés. Les liaisons entre bases azotées s'établissent toujours entre adénine et thymine et entre cytosine et guanine *(Figure 57)*.

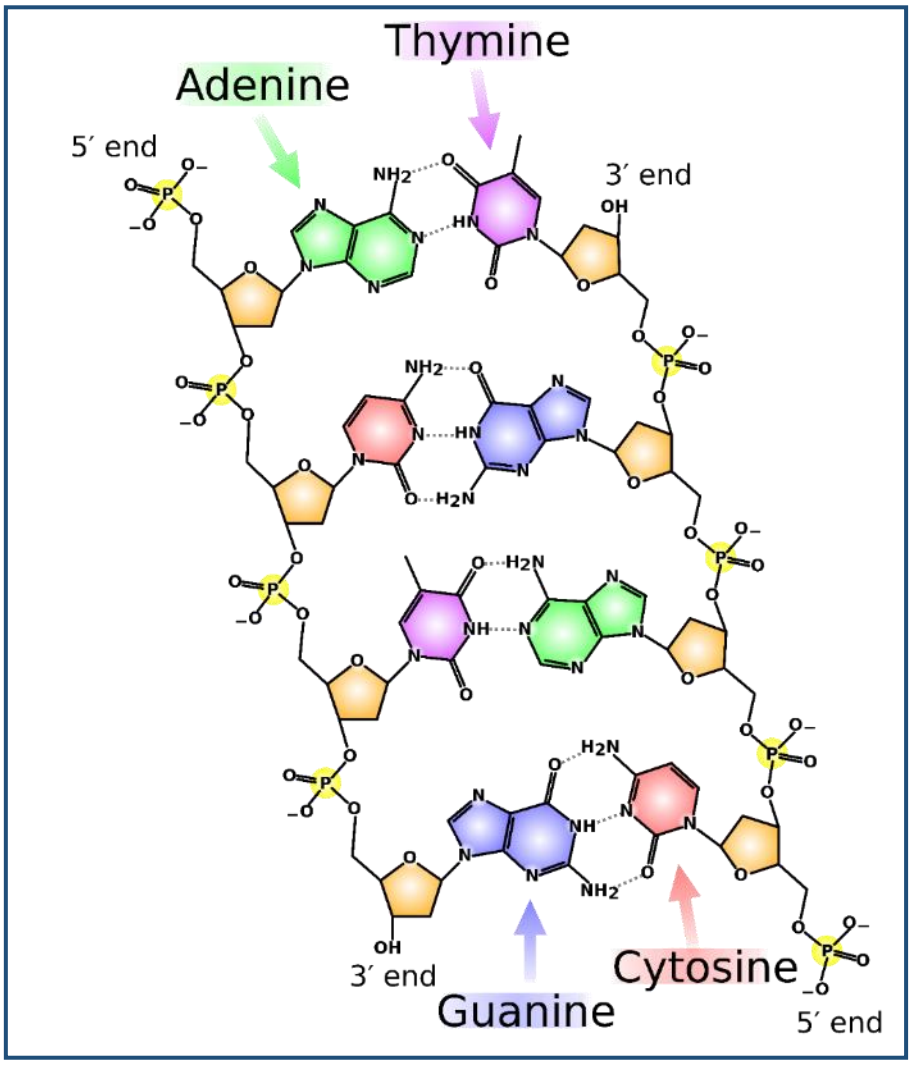


***Figure 57 :*** *Liaisons entres bases azotées de l'ADN formant sa structure moléculaire*[185]

Cette complémentarité des bases permet via la réplication d'obtenir une nouvelle molécule d'ADN à partir d'un unique brin. Une enzyme, l'ADN polymérase, permet cette réaction. C'est l'enchainement de ces bases qui constitue l'information génétique de chaque être vivant.

[185] BALL, M., Wikimedia Commons, *Chemical structure of DNA, with colored label identifying the four bases as well as the phosphate and deoxyribose components of the backbone.*

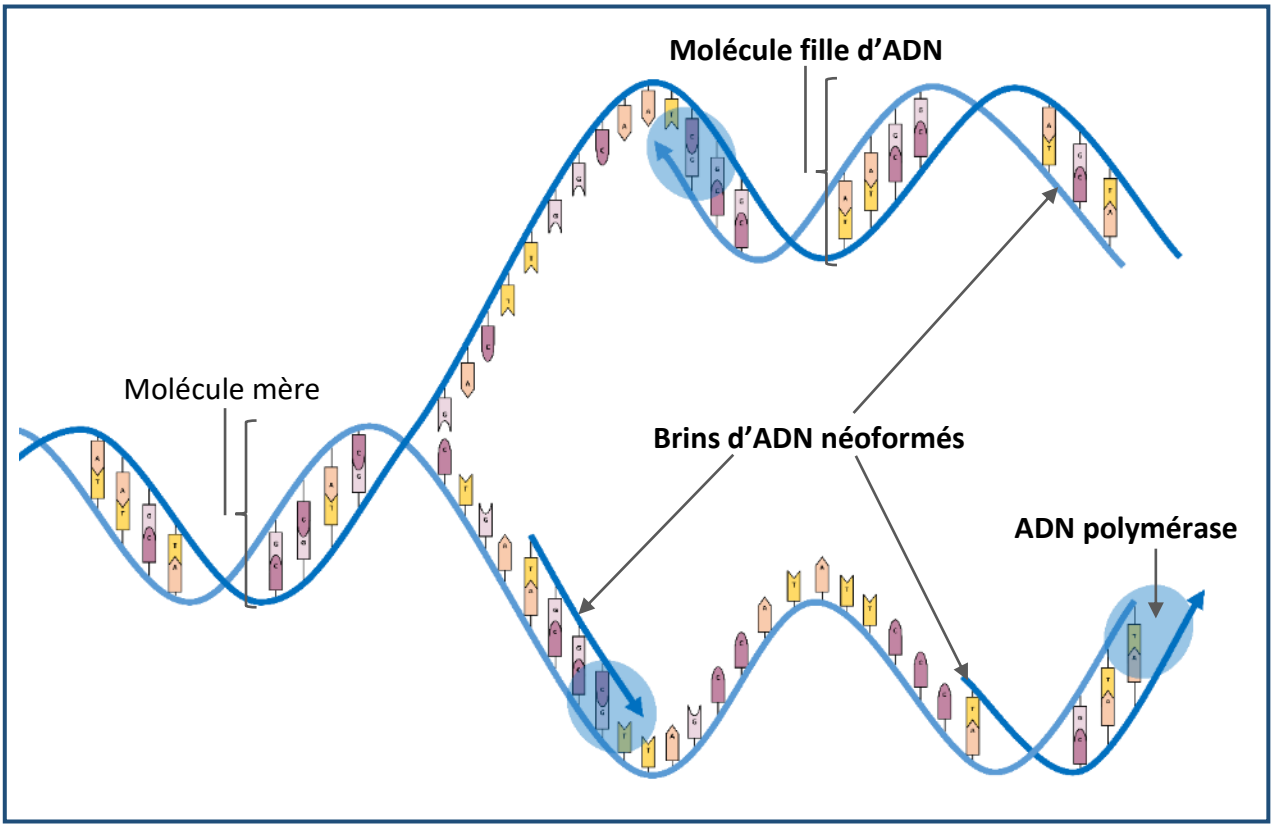


***Figure 58 :*** *Principe de la réplication de l'ADN*

### 3.2.2. L'utilisation de l'information génétique lors de la synthèse protidique[186]

*La transcription*

L'ADN n'est pas traduit directement en protéines, une autre étape intermédiaire est nécessaire : la transcription.

Elle fait intervenir un autre type d'acides nucléiques, les ARN (acides ribonucléiques). Cette molécule présente également un enchainement de bases azotées, mais il s'agit dans ce cas de ribonucléides (le pentose étant un ribose ici) et la thymine est remplacée par l'uracile (voir schéma plus haut).

Ainsi, à la thymine de l'ADN est associée l'adénine lors de la transcription ; à la l'adénine, l'uracile ; à la cytosine, la guanine ; à la guanine, la cytosine. Cette réaction est catalysée par une ARN polymérase et entraîne la formation d'un acide nucléique simple brin.

[186] CREPIN, *Expression des gènes et génie génétique*.

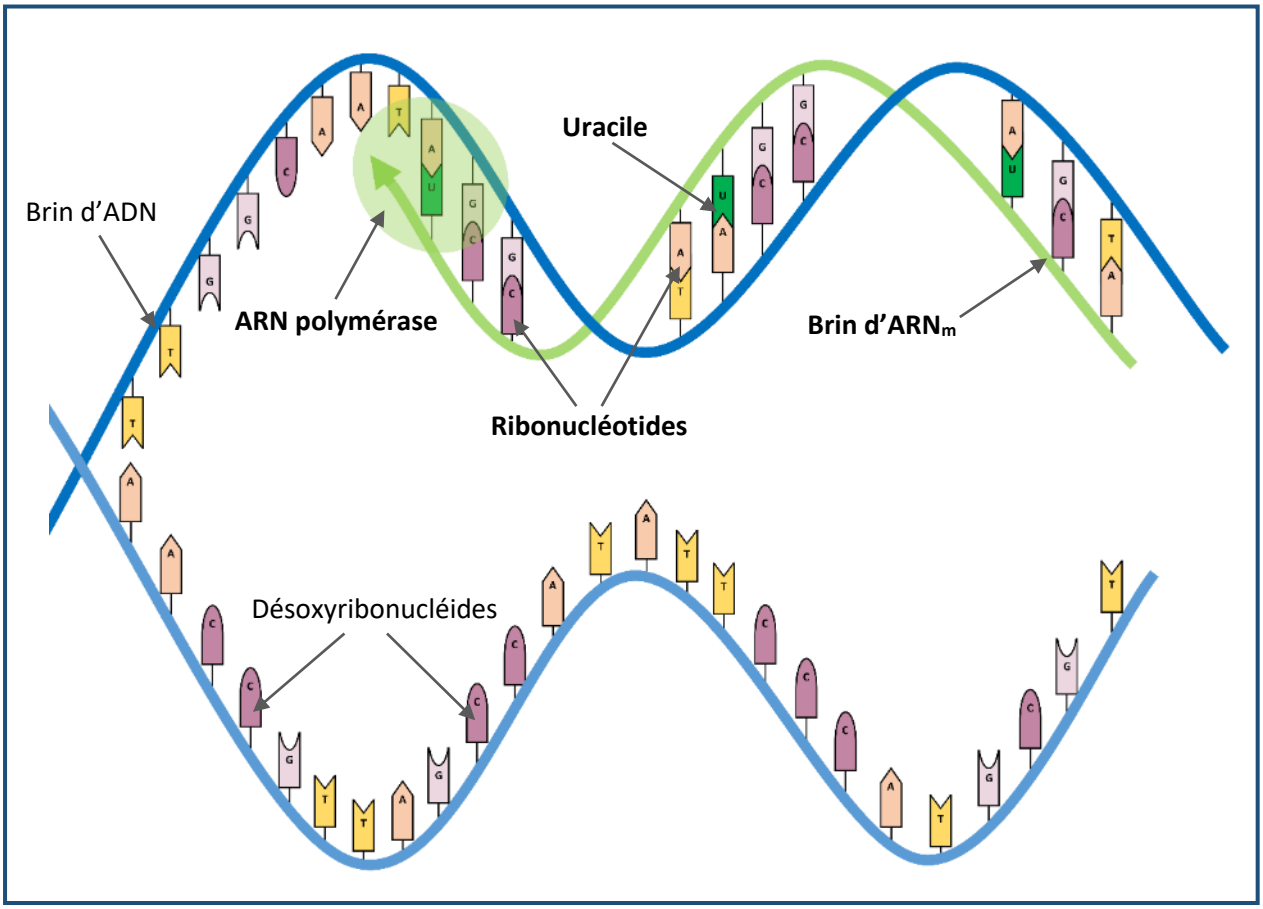


***Figure 59 :*** *Principe de la transcription de l'ADN en ARN*

Il existe différents types d'ARN ayant des rôles différents :

- Les ARN pré-messagers ($ARN_{pm}$) sont les molécules permettant d'exporter l'information génétique en dehors du noyau, dans le cytoplasme où aura lieu la traduction. Ces $ARN_{pm}$ subissent ensuite une maturation pour donner la molécule directement codante pour la synthèse des protéines : l'ARN messager ($ARN_m$) ;

- Les ARN ribosomiques ($ARN_r$) font partie des constituants des ribosomes permettant la traduction d'un $ARN_m$ en chaîne protidique ;

- Les ARN de transfert ($ARN_t$) sont de très petits acides ribonucléiques permettant le transport et la correspondance des acides aminés aux différents codons de l'$ARN_m$.

*La traduction*

Les nucléotides sont « lus » par groupes de 3 lors de la traduction de l'information génétique. Ces groupes sont appelés codons et correspondent par la suite aux acides aminés des protéines. La traduction est permise par les ribosomes qui font correspondre les acides aminés aux différents codons. Cependant, à chaque codon ne correspond pas un acide aminé propre. Il existe en effet une redondance du code génétique. Par exemple les codons GGU, GGC, GGA et GGG correspondent tous les quatre au même acide aminé, la glycine. Par ailleurs, d'autres codons (UAA, UAG et UGA) ne codent pour aucun acide aminé et sont appelés « codons-stop ». Ils entraînent l'arrêt de la traduction.

Tout l'ADN n'est pas traduit en protéines. Certaines séquences d'ADN ne sont pas transcrites par exemple. De plus, l'$ARN_{pm}$ est maturé en $ARN_m$ et permet une modulation de l'expression de l'information génétique.

De nombreux systèmes de modulation de l'expression génétique existent. Cette modulation peut être « spatiale » – puisque les protéines synthétisées ne sont pas les mêmes dans toutes les cellules de l'organisme – ou « temporelle » car cette synthèse n'est pas non plus constante au cours de la vie.

### 3.2.3. Le gène[187]

**1 GENE = 1 PROTEINE**

Ce modèle de base qui fut longtemps considéré comme une référence a aujourd'hui bien évolué. On sait aujourd'hui qu'un même gène peut conduire à la synthèse de protéines complètement différentes, tant par leur fonction que par leur structure. Un même gène peut ainsi conduire à la synthèse de plusieurs $ARN_m$ différents selon la cellule concernée, la période de vie de l'individu ou encore une stimulation physiologique. À chaque $ARN_m$ correspond une unique chaîne peptidique suite à la traduction mais une maturation post-traductionnelle est encore possible puisque la protéine acquiert par la suite sa structure spatiale et peut subir des modifications par ajout ou suppression de fonctions chimiques (ex : glycolisation) L'ADN d'un gène est transcrit en totalité en un $ARN_{pm}$ mais le gène et l'$ARN_{pm}$ correspondant contiennent des séquences non codantes, les introns. Les séquences codantes sont les exons. L'$ARN_{pm}$ Celui-ci subit ensuite un épissage qui conduit à l'obtention d'un ou plusieurs $ARN_m$ différents.

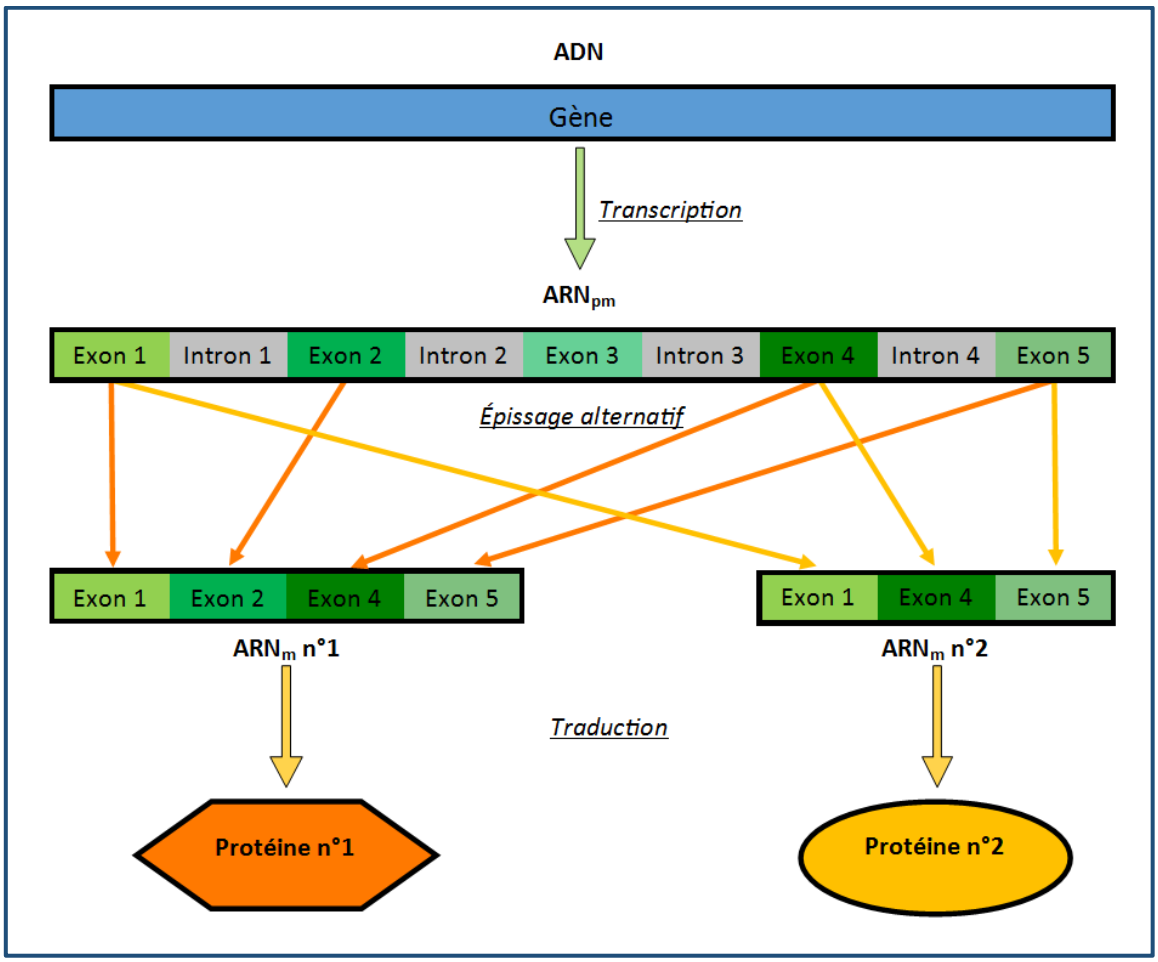


***Figure 60 :*** *Principe de l'épissage alternatif conduisant à deux protéines différentes à partir de la même information génétique*[188]

[187] Ibid.
[188] DUTRUGE, « Cours de génétique ».

Outre les introns et les exons permettant une modulation de l'expression génétique via épissage alternatif, le génome comprend d'autres séquences ayant des rôles divers. Le cadre de lecture du génome (RNT + séquence codante sur la *Figure 61* est flanqué d'un promoteur et d'un terminateur[189].

Le promoteur est une séquence à laquelle se fixe transitoirement l'ARN polymérase responsable de la transcription de l'ADN en ARN. Le terminateur, quant à lui, est la séquence marquant la fin de la transcription. Concernant le cadre de lecture, il est composé d'une séquence codante et de régions non traduites (RNT).

Le promoteur est flanqué de séquences régulatrices qui jouent un rôle dans la modulation fine de l'expression du gène sous l'action de molécules activatrices ou inhibitrices. Les interactions entre le promoteur et ces séquences peuvent être complexes et, pour simplifier, le terme de promoteur est souvent utilisé pour regrouper ces différentes régions.

Enfin, les gènes peuvent être précédés à distances par un amplificateur. Cette séquence, connue aussi sous le nom de « enhancer », est une région à laquelle peuvent se fixer des protéines qui entraînent une augmentation ou une diminution de l'expression génétique.

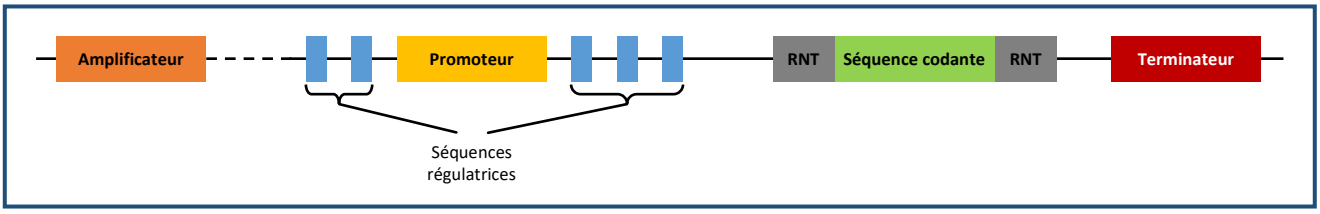


***Figure 61 :*** *Schéma d'un gène*[190]

[189] Ibid.
[190] Ibid.

## 3.3. Nomenclature des lignées murines

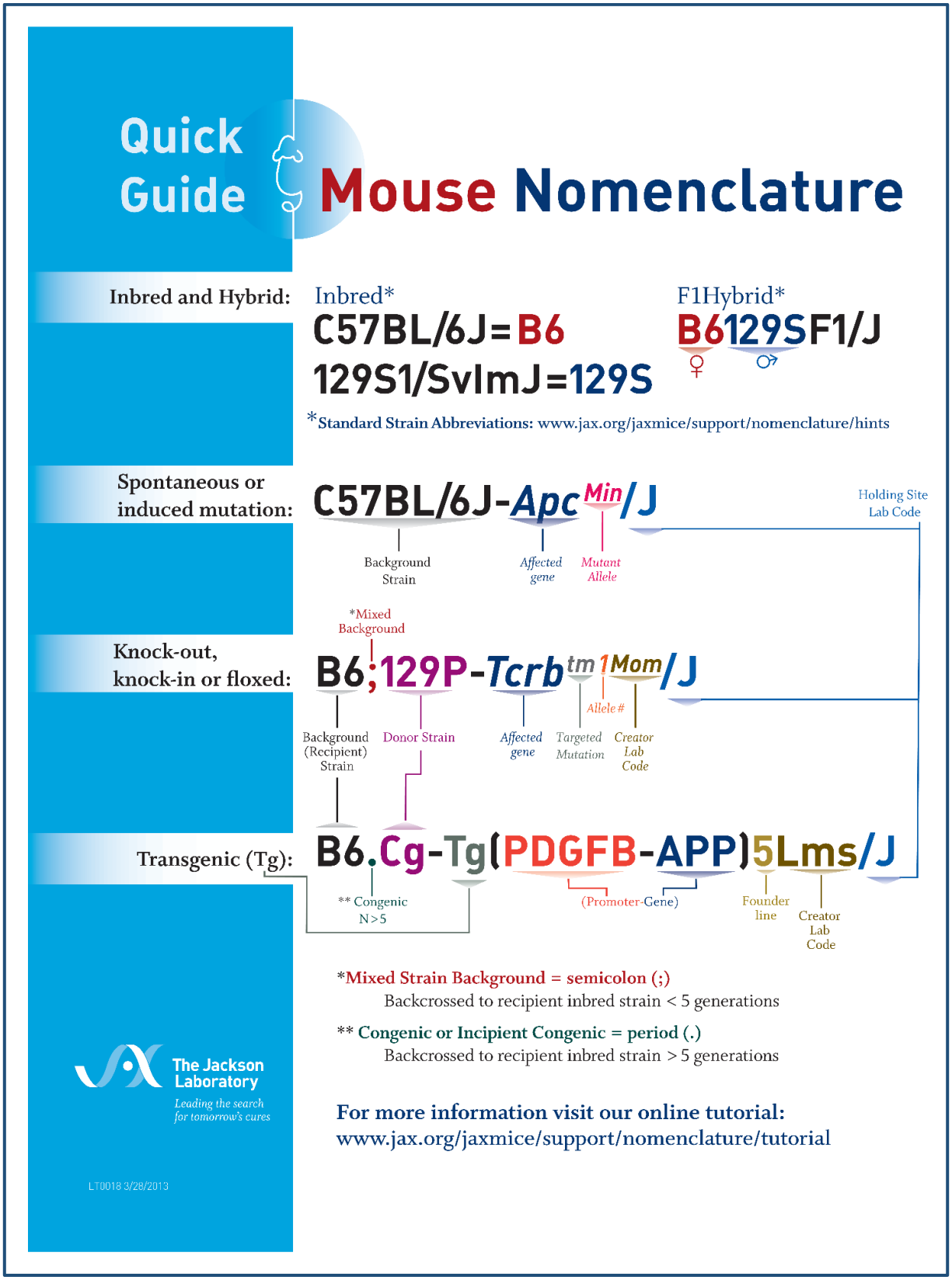


***Figure 62 :*** *Nomenclature utilisée pour la désignation des lignées de souris* [191]

[191] The Jackson Laboratory, « Mouse Nomenclature ».

# 4. ANNEXES RELATIVES À LA TROISIÈME PARTIE

## 4.1. Organisation du CPG

### 4.1.1. Organigramme

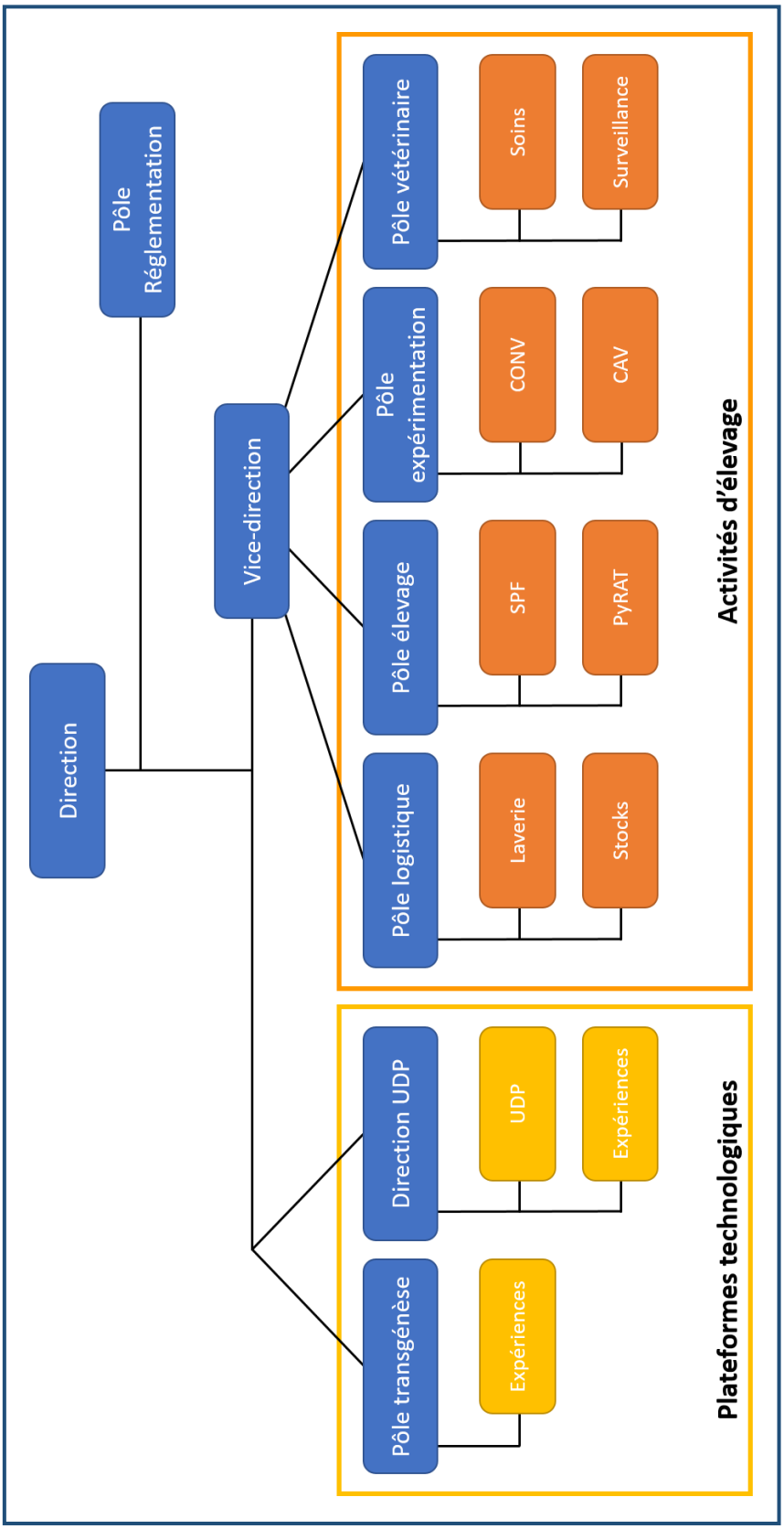


*Figure 63 : Organigramme simplifié du CPG*

## 4.1.2. Procédure de gestion des animaux malades

| | | |
|---|---|---|
| Préparé par : R. Doenlen, G. Ferrand | | Approuvé par : G. Ferrand |



Centre de PhénoGénomique

SCHOOL OF LIFE SCIENCES / CENTER OF PHENOGENOMICS
FACULTE DES SCIENCES DE LA VIE / CENTRE DE PHENOGENOMIQUE

ECOLE POLYTECHNIQUE FEDERALE DE LAUSANNE

| ANIMALERIE |
|---|
| PROCEDURE OPERATOIRE STANDARD N° 05004 |
| TITRE : Animaux malades |

| | | |
|---|---|---|
| Date d'émission : 17 novembre 2011 | Date de la révision : 11.2014 | Page 1 de 4 |



### Table des matières

1. Domaine d'application ..... 2
2. But ..... 2
3. Principe ..... 2
4. Mesures de sécurité ..... 2
5. Documents de base ..... 2
6. Autres documents valables ..... 2
7. Abréviations ..... 3
8. Responsabilités ..... 3
9. Procédures ..... 3
9.1 Un problème de santé de l'animal est détecté ..... 3
9.2 Comment informer le chercheur concerné ? ..... 3
9.3 Suivi de l'animal ..... 4
9.4 Animal mort en expérience ..... 4
10. Historique ..... 4

### 1. Domaine d'application

Cette procédure générale est valable au sein du Centre de PhénoGénomique (CPG) de l'EPFL et s'applique à l'ensemble des locaux hébergeant les animaux (SV-SPF / SV-CONV / SV-UDP / AN-CAV+ annexes).

### 2. But

Cette procédure décrit la marche à suivre pour effectuer le signalement et le traitement d'animaux malades.

### 3. Principe

Quotidiennement, les gardiens d'animaux (GA) contrôlent les cages. Lors de ce contrôle visuel ou lors du change de cage, des animaux morts ou malades peuvent être détectés. Dans ces cas précis, l'animalier a l'obligation de transférer cette information au vétérinaire et coordinateur de zone en suivant une procédure spécifique.

### 4. Mesures de sécurité

Le contrôle des animaux s'effectue soit lors du contrôle visuel sur le rack de cages soit lors du changement de cage sous une hotte de change.

Les animaux doivent être manipulés avec précaution et douceur pour leur éviter du stress et de la douleur qui pourraient les amener à mordre.

Toute morsure doit être déclarée (appelez 115 et prévenir le coordinateur de la zone concernée)

### 5. Documents de base

Annexe: exemple de fiche de traitement

### 6. Autres documents valables

SOP n° 05001 : Utilisation des hottes de change ICS (Tecniplast)
SOP n° 05000 : Changement de cages
SOP n° 05009 : Elimination des déchets des animaleries

## 7. Abréviations

Voir le lexique.

## 8. Responsabilités

| Rôle | Responsabilités |
|---|---|
| Gardien d'animaux (GA) | • Effectue un contrôle quotidiennement<br>• Vérifie s'il y a des animaux morts ou malades<br>• Rapporte tout incident au vétérinaire et au coordinateur<br>• Administre le traitement choisi par le vétérinaire en collaboration avec le chercheur<br>• Assure le suivi du traitement de l'animal |
| Vétérinaire | • Informe le chercheur<br>• Propose un diagnostic<br>• Prescrit un ou plusieurs traitements<br>• Précise le délai d'action au chercheur |
| Chercheur | • Répond au vétérinaire<br>• Valide l'une des solutions proposées par le vétérinaire |

## 9. Procédures

### 9.1 Un problème de santé de l'animal est détecté

a. Une photographie de l'étiquette de la cage est prise. Une ou plusieurs photographies, en mode macro de l'appareil photo (prédéfini sur l'appareil), sont prises par le GA.

b. Ces photos sont envoyées par le GA via courriel avec le descriptif succinct de l'animal concerné (sexe, ID, comportement, état général et symptomatologie) au vétérinaire (gisele.ferrand@epfl.ch) avec copie au coordinateur et au responsable de la zone d'animalerie.

c. Un courriel par cas est nécessaire.

d. L'objet du courriel est défini comme suit : **aa.mm.jj_ZONE _Pièce**

### 9.2 Comment informer le chercheur concerné ?

a. Après réception du courriel, le vétérinaire écrit un courriel au chercheur concerné avec les photographies en pièces jointes et copie à l'animalier, au coordinateur et au responsable de la zone d'animalerie concernée et éventuellement au chef de groupe ou responsable de groupe.

b. L'objet du courriel est défini comme suit : **aa.mm.jj_ZONE _Pièce_n° du cas.**

c. Le courriel indique:

- une description du cas
- une ou plusieurs hypothèses sur le diagnostic
- une ou plusieurs solutions proposées
- une date butoir pour la réponse ou l'action du chercheur qui se fait dans les 48h au plus tard après émission du courriel par le vétérinaire.





### 9.3 Suivi de l'animal

a. Le chercheur valide une des propositions du vétérinaire

b. Le vétérinaire transmet la décision (euthanasie, fiche de traitement) au GA avec copie au coordinateur et au responsable de la zone.

c. Le GA place la fiche sur le porte-étiquette de la cage concernée.

d. A chaque intervention effectuée dans le cadre d'un traitement, date et initiales du GA sont indiquées sur la fiche de traitement (voir annexe 2). Le traitement doit également se poursuivre le week-end lors des gardes d'inspection.

e. 48 heures après le début du traitement le GA évalue la situation de l'animal. En cas de doute, d'une situation sans progrès ou de dégradation, il demande alors au vétérinaire par courriel, en indiquant le N° du cas, de descendre contrôler l'animal.

f. Une fois le traitement terminé, la fiche de traitement est donnée au vétérinaire pour archivage.

g. Dans le cas où le chercheur ne répond pas au courriel du vétérinaire, le vétérinaire choisit, en collaboration avec le responsable de zone, la solution la mieux adaptée au cas et en informe le chercheur.

### 9.4 Animal mort en expérience

a. Une photographie de l'étiquette de la cage est prise. Une ou plusieurs photographies, en mode macro de l'appareil photo (prédéfini sur l'appareil), sont prises par le GA.

b. Ces photos sont envoyées au chercheur responsable de l'expérience, au coordinateur/trice, au responsable de la zone et au vétérinaire.

c. Un courriel par cas est nécessaire.

d. L'objet du courriel est défini comme suit : **aa.mm.jj_ZONE _Pièce_animal_found_dead**

e. S'il n'y a pas d'instructions particulières données par le chercheur, l'animal est éliminé selon la procédure habituelle (SOP N° 05009).

## 10. Historique

| Modification (description détaillée) | Auteur | Valable dès | Edition |
|---|---|---|---|
| Première édition | G.Ferrand, R.Doenlen | 17.11.11 | A |

4.1.3. Fiches de traitements

**FICHE DE TRAITEMENT**

| | | |
|---|---|---|
| Nom / Lab: | (3) | (2) |
| Cage / ID: | (4) | (5) |
| Pathologie: | (7) | (6) |
| Traitement: | **Tobradex** | |
| Date: | du jour | |
| Instructions: | | |

- Appliquer un cm de crème dans l'œil (mais sans le toucher avec le flacon) 1 à 2 fois par jour weekend inclus. Pendant 7 jours
- Ré-évaluer dans 48 heures et 7 jours

dates des interventions & initiales:

fin du traitement:

**Cas:** (1)

*Figure 64 : Exemple de fiche de traitement (ancien système)*

**FICHE DE TRAITEMENT**

| | | |
|---|---|---|
| Nom / Lab: | **PROJET NCOR2albcre set 2 for gluconeo** | **Experience LISP** |
| Cage / ID: | **SLIE-08128** | **Un de: LIE-L00423 LIE-L00422** |
| Pathologie: | **Inflammation/infection de l'oeil** | **Oeil** |
| Traitement: | **Tobradex** | |
| Prescrit le: | **14.07.2015** | |
| Instructions: | | |

Appliquer un peu de crème dans l'œil (mais sans le toucher avec le flacon) 1 fois par jour weekend inclus Pendant 7 jours,
Ré-évaluer dans 48 heures et 7 jours

**Dates des interventions & initiales:**

Fin du traitement:

**Cas:** **2015.07.02_SV-UDP 9733_001568**

*Figure 65 : Fiche de traitement (CaseTracker)*

# Alopécie

**Cas:** **2016.07.12_SV-SPF 0720_009004**

**Cage:** **SJGR-01734** **Groupe:** [illegible]

*Figure 66 : Fiche de suivi (CaseTracker)*

## 4.2. Sondages

### 4.2.1. Questionnaires soumis aux animaliers

**CaseTracker - Sondage n°1**

*Ce court questionnaire a pour but de recueillir votre avis concernant la base de données CaseTracker afin de mettre en place d'éventuelles améliorations.*

**Dans quelle zone travaillez-vous ?**

☐ SPF

☐ CONV

☐ UDP

☐ CAV

**Savez-vous pour quelles raisons le système CaseTracker a été mis en place ?**

☐ Oui

☐ Non

**Préférez-vous le système CaseTracker à l'ancien système ?**

☐ Oui

☐ Non

**La prise en main de CaseTracker a-t-elle été pour vous :**

☐ Très rapide

☐ Plutôt rapide

☐ Plutôt longue

☐ Longue

**Estimez-vous que la réunion formation à CaseTracker a été :**

☐ Suffisante

☐ Satisfaisante

☐ Non satisfaisante

☐ Insuffisante

**Jugez-vous que vous avez été suffisamment accompagné lors de la prise en mains de CaseTracker ?**

☐ Oui

☐ Plutôt

☐ Plutôt pas

☐ Non

**Depuis la mise en place de CaseTracker, estimez-vous que votre charge de travail est :**

☐ Très augmentée

☐ Augmentée

☐ Diminuée

☐ Très diminuée

**Trouvez-vous l'utilisation de CaseTracker :**

☐ Très simple

☐ Plutôt simple

☐ Plutôt difficile

☐ Difficile

**Rencontrez-vous encore des difficultés lors de l'utilisation de CaseTracker ?**

☐ Oui

☐ Non

Si oui, lesquelles ?

**Quelle(s) est (sont) le(s) aspect(s) que vous appréciez dans CaseTracker ?**

**Quelle(s) est (sont) le(s) aspect(s) que vous n'appréciez pas dans CaseTracker ?**

**Avez-vous des suggestions afin d'améliorer CaseTracker ?**

***Figure 67 :*** *Premier sondage*

**CaseTracker - Sondage n°2**

*Ce court questionnaire a pour but de recueillir votre avis concernant la base de données CaseTracker afin de mettre en place d'éventuelles améliorations.*

**Dans quelle zone travaillez-vous ?**

□ SPF

□ CONV

□ UDP

□ CAV

**Savez-vous pour quelles raisons le système CaseTracker a été mis en place ?**

□ Oui

□ Non

**Depuis la mise en place de CaseTracker, estimez-vous que votre charge de travail est :**

□ Très augmentée

□ Augmentée

□ Diminuée

□ Très diminuée

**Trouvez-vous l'utilisation de CaseTracker :**

□ Très simple

□ Plutôt simple

□ Plutôt difficile

□ Difficile

**Selon vous, les mises à jour de CaseTracker ont-elles amélioré son fonctionnement ?**

□ Oui

□ Non

**Rencontrez-vous encore des difficultés lors de l'utilisation de CaseTracker ?**

□ Oui

□ Non

Si oui, lesquelles ?

**Avez-vous remarqué certaines situations pour lesquelles CaseTracker pose problème ?**

□ Oui

□ Non

Si oui, lesquelles ?

**Pensez-vous que CaseTracker améliore le bien-être des animaux en détectant plus tôt des problèmes et en agissant plus rapidement ?**

□ Oui

□ Plutôt

□ Plutôt pas

□ Non

**Quelle(s) est (sont) le(s) aspect(s) que vous appréciez dans CaseTracker ?**

**Quelle(s) est (sont) le(s) aspect(s) que vous n'appréciez pas dans CaseTracker ?**

**Avez-vous des suggestions afin d'améliorer CaseTracker ?**

***Figure 68 :*** *Second sondage*

### 4.2.2. Résultats détaillés des sondages

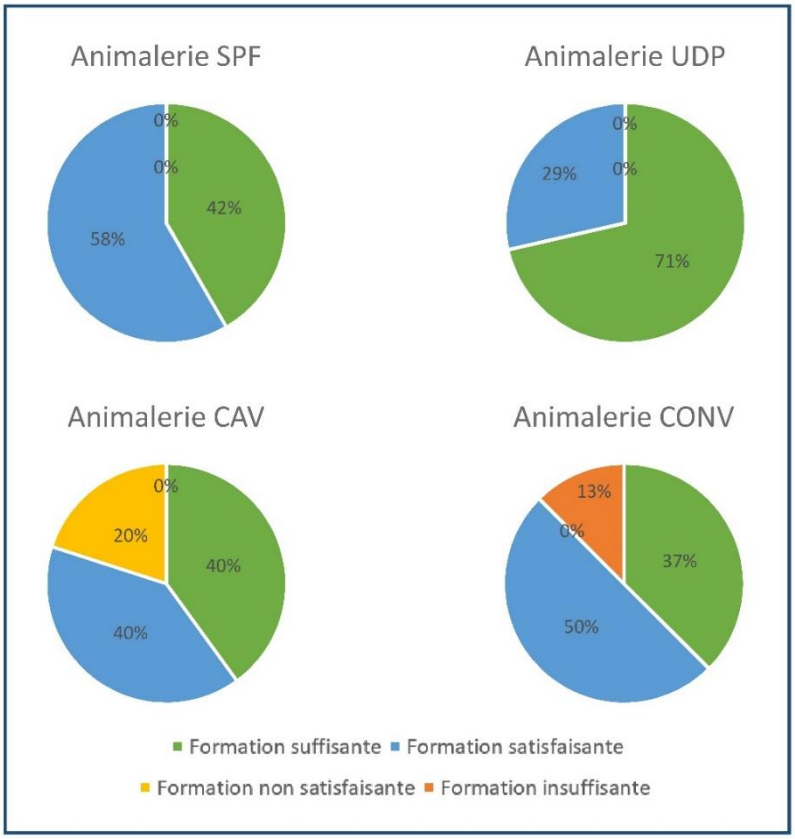


***Figure 69 :*** *Qualité jugée de la formation à l'utilisation de CaseTracker dans les différentes animaleries du CPG*

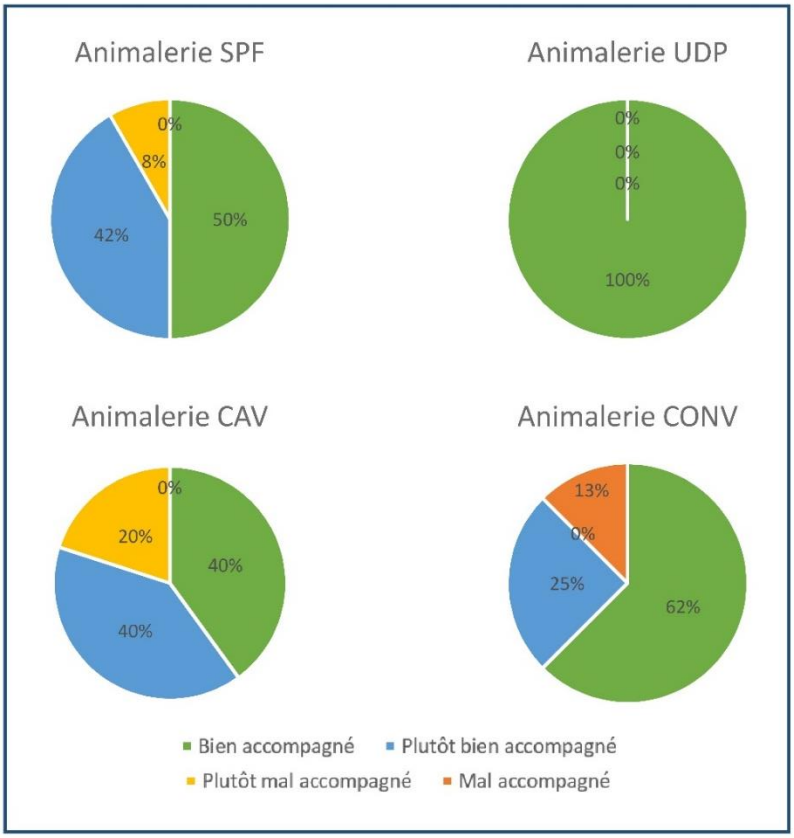


***Figure 70 :*** *Qualité jugée de l'accompagnement lors des premières utilisations de CaseTracker dans les différentes animaleries du CPG*

## 4.3. Fonctionnement de CaseTracker

### 4.3.1. Procédure de CaseTracker

Centre de PhénoGénomique

SCHOOL OF LIFE SCIENCES / CENTER OF PHENOGENOMICS
FACULTE DES SCIENCES DE LA VIE / CENTRE DE PHENOGENOMIQUE

ÉCOLE POLYTECHNIQUE FÉDÉRALE DE LAUSANNE

| ANIMALERIE | | |
|---|---|---|
| PROCEDURE OPERATOIRE STANDARD N° 05004 | | |
| TITRE : Animaux malades | | |
| Date d'émission : 17 novembre 2011 | Date de la révision : 07.2015 | Page 1 de 5 |

| Préparé par : A. Humbert, G. Ferrand | Approuvé par : G. Ferrand |
|---|---|

EPFL SV CPG • SV Building – SV1840 • Station 19 • CH-1015 Lausanne •http://sv.epfl.ch
*(Ne pas copier. Le seul document officiel et approuvé se trouve sur le serveur CPG)*

| SOP N°05004 | Titre: Animaux malades | Date: 13.04.15 | Page 2 de 5 |
|---|---|---|---|

**Table des matières**


1. Domaine d'application ..... 2
2. But ..... 2
3. Principe ..... 2
4. Mesures de sécurité ..... 2
5. Documents de base ..... 2
6. Autres documents valables ..... 2
7. Abréviations ..... 3
8. Responsabilités ..... 3
9. Procédures ..... 3
   9.1 Un problème de santé de l'animal est détecté ..... 3
   9.2 Comment informer le chercheur concerné ? ..... 4
   9.3 Suivi de l'animal ..... 4
   9.4 Animal mort en expérience ..... 4
10. Historique ..... 5


**1. Domaine d'application**

Cette procédure générale est valable au sein du Centre de PhénoGénomique (CPG) de l'EPFL et s'applique à l'ensemble des locaux hébergeant les animaux (SV-SPF / SV-CONV / SV-UDP / AN-CAV+ annexes).

**2. But**

Cette procédure décrit la marche à suivre pour effectuer le signalement et le traitement d'animaux malades ou morts.

**3. Principe**

Quotidiennement, les gardiens d'animaux (GA) contrôlent les cages. Lors de ce contrôle visuel ou lors du change de cage, des animaux morts ou malades peuvent être détectés. Dans ces cas précis, l'animalier a l'obligation de transférer cette information au vétérinaire en suivant une procédure spécifique.

**4. Mesures de sécurité**

Le contrôle des animaux s'effectue soit lors du contrôle visuel sur le rack de cages soit lors du changement de cage sous une hotte de change.

Les animaux doivent être manipulés avec précaution et douceur pour leur éviter du stress et de la douleur qui pourraient les amener à mordre.

Toute morsure doit être déclarée (appelez 115 et prévenir le coordinateur de la zone concernée)

**5. Documents de base**

Annexe : exemple de fiche de traitement

**6. Autres documents valables**

SOP n° 05001 : Utilisation des hottes de change ICS (Tecniplast)
SOP n° 05000 : Changement de cages
SOP n° 05009 : Elimination des déchets des animaleries

EPFL SV CPG • SV Building – SV1840 • Station 19 • CH-1015 Lausanne •http://sv.epfl.ch
*(Ne pas copier. Le seul document officiel et approuvé se trouve sur le serveur CPG)*

## 7. Abréviations

Voir le lexique.

## 8. Responsabilités

| Rôle | Responsabilités |
|---|---|
| Gardien d'animaux (GA) | • Effectue un contrôle quotidiennement ;<br>• Vérifie s'il y a des animaux morts ou malades ;<br>• Rapporte tout incident au vétérinaire et au coordinateur ;<br>• Suit les cas. Si aucune nouvelle du vétérinaire ou du chercheur dans les 24, doit relancer le vétérinaire ;<br>• Doit marquer le numéro de cas en lien avec le numéro de cage pour le suivi ;<br>• Administre le traitement choisi par le vétérinaire en collaboration avec le chercheur ;<br>• Assure le suivi du traitement de l'animal et informe de la fin du cas. |
| Vétérinaire | • Informe le chercheur ;<br>• Propose un diagnostic ;<br>• Prescrit un ou plusieurs traitements ;<br>• Précise le délai d'action au chercheur. |
| Chercheur | • Répond au vétérinaire ;<br>• Valide l'une des solutions proposées par le vétérinaire. |

## 9. Procédures

### 9.1 Un problème de santé de l'animal est détecté

a. Une photographie de l'étiquette de la cage est prise (sauf SPF). Une ou plusieurs photographies, en mode macro de l'appareil photo (prédéfini sur l'appareil), sont prises par le GA. Attention à la taille de la photo, maximum 500 ko.

b. Si aucun appareil n'est disponible, les photographies pourront être prises plus tard et ajoutées aux symptômes précédemment créés en utilisant la fonction « edit »

a. Le GA créé un cas dans CaseTracker. Il y renseigne le numéro de la cage PyRAT (et en importe les données automatiquement en cliquant sur la case ad hoc). Il y ajoute le nom du responsable s'il le connait.
Il clique sur la case « urgent » si tel est le cas puis écrit éventuellement un petit commentaire.
Il renseigne impérativement le ou les symptômes et en précise la localisation.
Il ajoute ensuite les images et éventuellement les vidéos.
Le cas est alors « moutarde », couleur signifiant qu'il est en attente d'une action du vétérinaire.
L'animalier marque le numéro du cas sur l'étiquette de la cage.

c. Un cas CaseTracker par animal malade est nécessaire.

d. Lorsque des animaux d'une même cage ont à la fois des symptômes en commun et des symptômes différents, des cas distincts doivent être créés. Tous les animaux d'un même cas doivent présenter des symptômes identiques.





### 9.2 Comment informer le chercheur concerné ?

Le vétérinaire informe le chercheur du cas, qui devient « lavande ».

### 9.3 Suivi de l'animal

b. Le chercheur valide une des propositions du vétérinaire

c. Le vétérinaire transmet la décision (euthanasie, fiche de traitement) au GA via la base de données. Le cas devient « rouge »

d. Le GA euthanasie, suit le cas ou place la fiche sur le porte-étiquette de la cage concernée. Le cas devient « blanc »

e. A chaque intervention effectuée dans le cadre d'un traitement, date et initiales du GA sont indiquées sur la fiche de traitement (voir annexe 2). Le traitement doit également se poursuivre le week-end lors des gardes d'inspection.

f. Si l'animalier n'a pas de réponse dans les 24 heures au maximum (si c'est plus urgent il doit réagir plus vite), il contacte le vétérinaire pour relancer, via email en rappelant le numéro du cas.

g. 48 heures après le début du traitement le GA évalue la situation de l'animal. En cas de doute, d'une situation sans progrès ou de dégradation, il demande alors au vétérinaire par courriel, en indiquant le N° du cas, de descendre contrôler l'animal. Ou il recréé un symptôme dans le cas CaseTracker avec de nouvelles informations.

h. Au bout de 7 jours, soit l'animal est guéri et la fiche de traitement est donnée au vétérinaire pour archivage.
De même dans CaseTracker l'animalier ouvre le cas et clique sur fin de traitement, « guéri »
Soit l'animal n'est pas guéri et le GA va dans CaseTracker clique sur fin de traitement et choisit « non guéri ». Le vétérinaire fera une fiche de prolongation.
Si le cas s'aggrave, change… Il faut alors refaire un « symptôme »

i. Toute question concernant un cas en cours devra être posée au vétérinaire par email et non via CaseTracker

j. Dans le cas où le chercheur ne répond pas au courriel du vétérinaire, le vétérinaire choisit, en collaboration avec le responsable de zone, la solution la mieux adaptée au cas et en informe le chercheur.

### 9.4 Animal mort en expérience

a. Une photographie de l'étiquette de la cage est prise (sauf SPF).

b. Cette photo est envoyée via CaseTracker au vétérinaire. Symptôme : Animal mort, choisir la « localisation ». Et mettre des détails sur la cause si évidente.

c. Un cas par cage est nécessaire.

d. S'il n'y a pas d'instructions particulières données par le chercheur, l'animal est éliminé selon la procédure habituelle (SOP N° 05009).

4.3.2. Documentation papier

***Tableau 14 :*** *Fiche de contrôle de la surveillance des contraintes animales*

ÉCOLE POLYTECHNIQUE FÉDÉRALE DE LAUSANNE

Centre de PhénoGénomique

**- Vérification de la cellule :** doit se faire tous les jours, en même temps que la vérification de la nourriture, boisson…

**- Change des cages :** fréquence variable

**- Vérification des cages :** complète le change des cages

} Le total de nombre de change(s) et de vérification(s) des cages doit être au moins de 2 par semaine

**- Vérification des nids :** pour cages de breeding

**Zone :**

**Cellule n° :**

**Rack n° :**

**Semaine n° :**

| Date + vérification de cellule | | Heure | Animalier (Initiales) | Vérification de la cellule (1 fois par jour) | Change des cages | Vérification des cages | Vérification des nids (si breeding) | Contrainte(s) observée(s) ? (Si oui, se reporter au recueil des contraintes) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | 2 fois/sem au total | | | NON | OUI |
| Lundi | … / … / 20… | … h … | | ☐ | | | | ☐ | ☐ |
| | | … h … | | | ☐ | | | ☐ | ☐ |
| | | … h … | | | | ☐ | | ☐ | ☐ |
| | | … h … | | | | | ☐ | ☐ | ☐ |
| Mardi | … / … / 20… | … h … | | ☐ | | | | ☐ | ☐ |
| | | … h … | | | ☐ | | | ☐ | ☐ |
| | | … h … | | | | ☐ | | ☐ | ☐ |
| | | … h … | | | | | ☐ | ☐ | ☐ |
| Mercredi | … / … / 20… | … h … | | ☐ | | | | ☐ | ☐ |
| | | … h … | | | ☐ | | | ☐ | ☐ |
| | | … h … | | | | ☐ | | ☐ | ☐ |
| | | … h … | | | | | ☐ | ☐ | ☐ |
| Jeudi | … / … / 20… | … h … | | ☐ | | | | ☐ | ☐ |
| | | … h … | | | ☐ | | | ☐ | ☐ |
| | | … h … | | | | ☐ | | ☐ | ☐ |
| | | … h … | | | | | ☐ | ☐ | ☐ |
| Vendredi | … / … / 20… | … h … | | ☐ | | | | ☐ | ☐ |
| | | … h … | | | ☐ | | | ☐ | ☐ |
| | | … h … | | | | ☐ | | ☐ | ☐ |
| | | … h … | | | | | ☐ | ☐ | ☐ |
| Samedi | … / … / 20… | … h … | | ☐ | | | | ☐ | ☐ |
| Dimanche | … / … / 20… | … h … | | ☐ | | | | ☐ | ☐ |

***Tableau 15 :*** *Recueil des contraintes*

ÉCOLE POLYTECHNIQUE FÉDÉRALE DE LAUSANNE

**Zone :**

**Cellule n° :**

Centre de PhénoGénomique

| Date | Propriétaire + Chercheur | ID cage + ID animal | Animalier (Initiales) | Contrainte observée | | Précisions, commentaires | Suivi du cas (cocher) | Mise en place de mesures |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Index | Organe | | | |
| … / … / 20… | -<br>- | -<br>- | | | | | Vétérinaire prévenu ☐<br>Cas n° …… | Décision :<br>Début de traitement ☐<br>Euthanasie ☐<br>Application : Initiales :<br>… / … / 20… |
| … / … / 20… | -<br>- | -<br>- | | | | | Vétérinaire prévenu ☐<br>Cas n° …… | Décision :<br>Début de traitement ☐<br>Euthanasie ☐<br>Application : Initiales :<br>… / … / 20… |
| … / … / 20… | -<br>- | -<br>- | | | | | Vétérinaire prévenu ☐<br>Cas n° …… | Décision :<br>Début de traitement ☐<br>Euthanasie ☐<br>Application : Initiales :<br>… / … / 20… |
| … / … / 20… | -<br>- | -<br>- | | | | | Vétérinaire prévenu ☐<br>Cas n° …… | Décision :<br>Début de traitement ☐<br>Euthanasie ☐<br>Application : Initiales :<br>… / … / 20… |
| … / … / 20… | -<br>- | -<br>- | | | | | Vétérinaire prévenu ☐<br>Cas n° …… | Décision :<br>Début de traitement ☐<br>Euthanasie ☐<br>Application : Initiales :<br>… / … / 20… |

4.4. Définition lignée

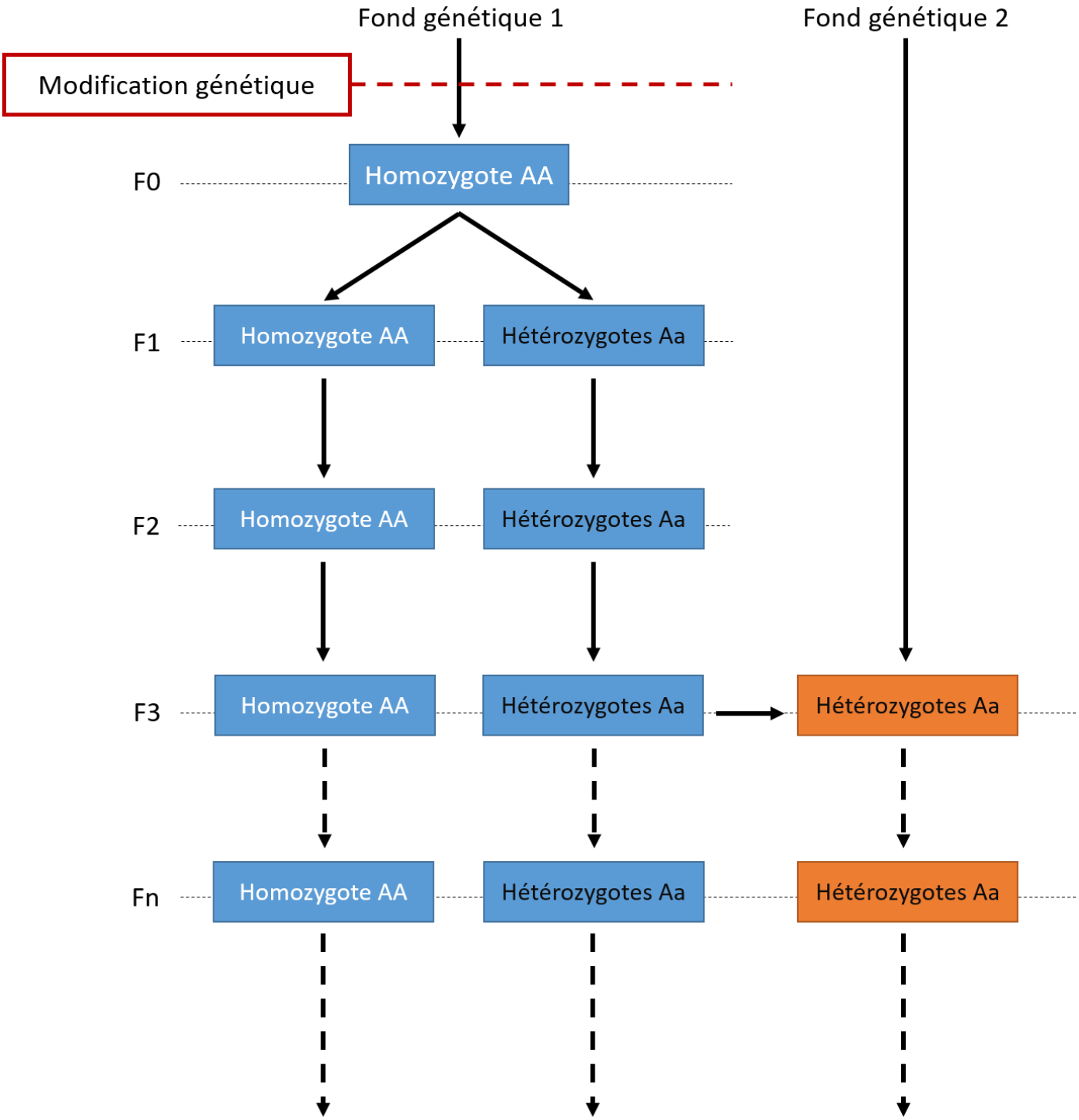


***Figure 71 :*** *Exemple de succession d'individus apparentés*

*Exemples de définitions de lignées possibles*

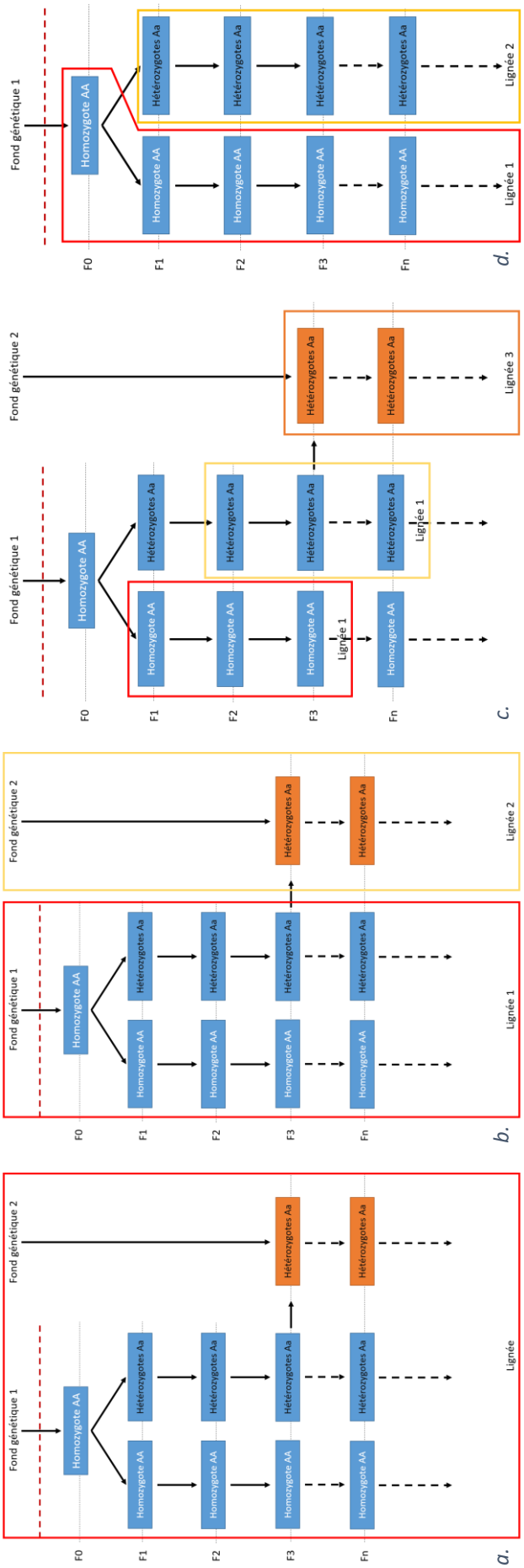


***Figure 72 :*** *Exemples de lignées selon différentes définitions*

*a. Lignée définie par l'ensemble des animaux issus des mêmes fondateurs.*

*b. Lignée définie par l'ensemble des animaux apparentés et ayant le même fond génétique.*

*c. Lignée définie par l'ensemble des animaux apparentés sur 3 générations.*

*d. Lignée définie par l'ensemble des animaux apparentés et présentant les mêmes versions alléliques les uns par rapport aux autres.*

**HUMBERT Arthur**

# SUIVI ET DÉTERMINATION DE PHÉNOTYPES INVALIDANTS SUR DES LIGNÉES MURINES DANS UN CENTRE DE PHÉNOGÉNOMIQUE

**Thèse d'État de Doctorat Vétérinaire :** Lyon, le 14 décembre 2016

## RESUME :

Aujourd'hui, la recherche biomédicale, qu'elle soit fondamentale ou appliquée, ne peut pas se passer de l'utilisation de modèles d'animaux. La place des animaux génétiquement modifiés est croissante dans ce domaine et les contraintes imposées aux animaux sont donc devenues plus difficiles à prévoir et à réduire.
Cette évolution de l'expérimentation animale ouvre donc un nouveau champ d'interrogations scientifiques, législatifs et surtout éthiques. Une vaste entreprise visant à améliorer les connaissances et la prise en charge des modèles d'animaux génétiquement modifiés a donc été entreprise à l'échelle internationale.
Ainsi, l'Europe et la Suisse se sont dotés d'outils juridiques de plus en plus développés et exigeants en matière de protection animale, et notamment dans le cadre de la détection et la caractérisation de phénotypes invalidants pouvant être la conséquence de modifications génétiques.
Afin de répondre aux exigences réglementaires et pouvoir traiter de meilleure façon possible les rongeurs utilisés à l'Ecole Polytechnique de Lausanne, j'ai participé à la conception d'un nouveau logiciel de gestion des cas d'animaux malades. CaseTracker permet ainsi un meilleur suivi des affections touchant les animaux hébergés, une détection de certains phénotypes jusqu'alors inconnus et une déclaration plus facile des cas détectés aux autorités. Le système possède, en outre, un potentiel évolutif important, ce qui permettra par la suite d'élaborer des statistiques sur les cas détectés et de s'adapter aux évolutions législatives et scientifiques à venir.

## MOTS CLES :

- Organismes transgéniques ;
- Éthique appliquée ;
- Expérimentation animale ;
- Animaux – Protection – Droit ;
- Transformation génétique ;
- Souris de laboratoire ;
- Logiciels – Développement.

## JURY :

| | |
|---|---|
| Président : | Monsieur le Professeur Frédéric BERARD |
| 1er Assesseur : | Madame le Docteur Delphine GREZEL |
| 2nd Assesseur : | Madame le Professeur Denise REMY |
| Membre invité : | Monsieur le Docteur Marcel GYGER |

## DATE DE SOUTENANCE : 14 décembre 2016

## ADRESSE DE L'AUTEUR :

Arthur HUMBERT

33 Chemin Florian

01210 Ferney-Voltaire