

LES MODÈLES D'ANIMAUX DE FERME UTILISÉS EN CHIRURGIE EXPÉRIMENTALE : INTÉRÊT ET CONTRAINTES, ASPECTS ÉTHIQUES

FARM ANIMAL MODELS USED IN EXPERIMENTAL SURGERY: INTEREST, CONSTRAINTS, AND ETHICS

Par Raymond NOWAK et Juliette COGNIE⁽¹⁾
(Communication présentée le 23 octobre 2009)

RÉSUMÉ

L'Institut National de Recherche Agronomique a développé la chirurgie expérimentale chez les animaux de ferme dans les années 1970. Ses activités de recherche relèvent à la fois d'une démarche cognitive et d'une perspective d'application et concernent bovins, caprins, ovins, porcins et équins. Cet article prend pour exemple l'unité de recherche de Physiologie de la Reproduction et des Comportements dont la spécificité est de disposer d'une plate-forme de chirurgie expérimentale spécialisée en neurochirurgie et chirurgie abdominale, et adaptée aux animaux de ferme. Les actes chirurgicaux sont réalisés au sein d'un hôpital et les prélèvements dans un abattoir, ces deux structures intégrées offrant, en une structure appelée « Hôpital - Abattoir Expérimental » (HAE), des services adaptés aux besoins des chercheurs. Cette activité est très strictement encadrée par la réglementation et exige que les locaux expérimentaux soient agréés et que les personnels disposent de toutes les formations nécessaires. La réduction de la douleur post-chirurgicale fait l'objet d'une attention particulière. En outre, les chercheurs ont la possibilité de saisir les comités d'éthique afin d'obtenir leur avis sur la procédure expérimentale.

Mots-clés : animaux de ferme, physiologie de la reproduction, comportements, chirurgie, soins per-opératoires, douleur, éthique.

SUMMARY

The French agricultural research institute INRA has developed experimental surgery in farm animals in the 1970s. The research programs are aimed at improving theoretical knowledge on major biological functions as well as practical applications on cattle, goats, sheep, pigs, and horses. In this article the research activity of the Reproductive Physiology and Behaviour centre is taken as an example because of its important experimental surgery unit specialized in abdominal and brain surgery. Surgical procedures are performed in a hospital and specimens are collected from a slaughterhouse. This research activity is very strictly controlled by the French regulation, and must be conducted in authorised premises by adequately trained personnel. Special care is given to the alleviation of post-surgical pain. In addition, scientists may seek the opinion of ethics committee on their experimental procedures.

Key words: farm animals, reproductive physiology, behaviour, surgery, peroperative care, pain, ethics.

(1) UMR 6175, Unité de Physiologie de la Reproduction et des Comportement, 37380 Nouzilly.

INTRODUCTION

En recherche expérimentale, les chercheurs ont principalement recours aux rats et aux souris. Ceux-ci représentent 87,5 % des animaux utilisés en 2004, selon l'enquête réalisée par le Ministère de la Recherche, c'est-à-dire plus de 2 millions sur un total de 2,3 millions d'animaux. Viennent ensuite les oiseaux (4,57 %), les lapins (4,01 %) et les poissons (2,17 %). Les primates, essentiellement des macaques, ne représentent qu'une très faible proportion des animaux utilisés en expérimentation animale (moins de 0,16 %). Quant aux animaux de ferme, ils représentent 0,57 % des animaux expérimentaux. Du fait de leur statut d'animaux de rente, c'est essentiellement l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) qui en est l'utilisateur. Les différentes activités de recherche relèvent à la fois d'une démarche cognitive (fonctionnement des systèmes) et d'une perspective d'application, dans le but de produire mieux et à moindre coût, tout en respectant les animaux et l'environnement. En outre, certaines espèces présentent un intérêt pour la recherche biomédicale.

Une partie seulement des animaux de ferme est utilisée en chirurgie expérimentale, activité qui a pris son essor dans les années 1970s. Notre objet n'est pas de présenter une revue exhaustive de leur utilisation. Nous illustrerons notre propos en décrivant l'activité de recherche de l'Unité de recherches de Physiologie de la Reproduction et des Comportements (PRC) à Nouzilly (Indre-et-Loire). Elle est la plus active dans la pratique de la chirurgie expérimentale. Elle mène des recherches fondamentales et appliquées sur la fonction de reproduction des mammifères domestiques (bovins, ovins, caprins, équins et porcins) et sur les comportements liés à la reproduction et aux relations sociales. L'unité est associée au CNRS et à l'Université François Rabelais de Tours, et les recherches concernant l'espèce équine sont conduites avec la collaboration de chercheurs des Haras Nationaux. L'association avec le laboratoire de Biologie de la Reproduction de la Faculté de Médecine de Tours permet d'élargir le champ des compétences de l'unité à l'espèce humaine.

Le centre de recherche INRA de Nouzilly existe depuis 1964 mais c'est à partir de 1971 que s'est développée la chirurgie expérimentale dont l'évolution est retracée dans l'*encadré 1*. Les animaux proviennent de l'unité Pluri-espèces d'Expérimentation Animale de l'INRA de Nouzilly, qui entretient plusieurs troupeaux et dispose de différentes infrastructures (lazaret, bergeries, étables, écuries, porcherie, hôpital, abattoir) représentant une surface d'environ 19 500 m². Les effectifs moyens d'animaux sont constitués de 90 bovins, 250 caprins, 1 700 ovins, 220 équins et 700 porcins. Chaque année, environ 130 protocoles expérimentaux sont mis en œuvre, dont certains sont réalisés chez des lapins, poulets et cailles provenant des deux autres unités du Centre de Nouzilly.

THÈMES ET ACTIVITÉS DE RECHERCHE ACTUELS

Les travaux de l'Unité portent à la fois sur le niveau périphérique que représente le tractus génital mâle ou femelle et au

Encadré 1

Évolution de la chirurgie expérimentale à Nouzilly

1971-1976

- Mise au point de l'anesthésie générale gazeuse par le fluothane en circuit fermé, sous oxygène seul, après intubation endotrachéale ;
- mise au point de la coelioscopie chez la brebis, le porc et la vache sous anesthésie générale ;
- mise au point de nouvelles interventions en chirurgie abdominale par laparotomie médiane sous-ombilicale : micro-perfusions dans l'artère ovarienne, cathétérisation fœtale et liquide amniotique, surrénalectomie, cryptorchidie expérimentale, hystérectomie, hypophysectomie fœtale ;
- mise au point de nouvelles techniques en neurochirurgie : épiphysectomie chez l'ovin (pinéalectomie), hypophysectomie (ovins et porcins).

1976 - 1978

- Mise au point d'implantation de canule dans les structures encéphaliques et les cavités ventriculaires ;
- vasectomie (ovins, équins) ;
- hystérectomies et collecte d'embryons chez la jument ;
- prélèvement et stockage d'échantillons du liquide amniotique chez la truie et la brebis pour dosage par chromatographie en phase gazeuse des acides gras : test de maturité fœtale pour définir la notion de prématurité.

1977-1997

- Création d'une installation inédite de manipulation des gros animaux anesthésiés (bovins en particulier).

1988-1997

- Pôle d'accueil pour les équipes médicales intéressées par l'expérimentation animale ;
- utilisation du bistouri Laser CO2 permettant des approches chirurgicales très précises ;
- mise au point de la canulation du système porte hypophysaire chez l'ovin.

2003-2006

- certification ISO 9001 par l'Association Française de l'Assurance Qualité (AFAQ) ;
- ouverture aux médecins des services hospitalo-universitaires souhaitant expérimenter sur des gros animaux et aux étudiants désirant recevoir une formation en expérimentation animale ;
- mise en œuvre de séances de formation de coelochirurgie pour les chirurgiens et infirmières, en vue de l'obtention d'un Diplôme Inter-Universitaire ;
- projet de création d'une plate-forme d'exploration fonctionnelle et d'enseignement des techniques de chirurgie et d'imagerie chez les animaux domestiques ;
- étude du projet de plateforme de Chirurgie et d'Imagerie pour la Recherche et l'Enseignement (CHIRE).

niveau central, sur les structures encéphaliques qui contrôlent la fonction de reproduction et l'expression comportementale des animaux de ferme. Pour ce faire, l'Unité dispose d'un hôpital équipé pour la neurochirurgie et la chirurgie abdominale essentiellement des ovins, caprins, porcins et aussi équins. Actuellement, les principales actions sont articulées autour des thèmes de recherche suivants :

- neurobiologie des comportements infantiles, sexuels et maternels ;
- libération du neuropeptide hypothalamique LHRH ou GnRH (Luteinizing Hormone Releasing Hormone), sous l'influence de différents facteurs externes et internes ;
- sécrétion des hormones hypophysaires et maîtrise de leur activité biologique ;
- mécanismes d'action des hormones gonadotropes pour une meilleure maîtrise des fonctions testiculaires et ovariennes, dont l'ovulation ;
- maturation épидидymaire des spermatozoïdes, acquisition de leur pouvoir fécondant et amélioration des méthodes de conservation du sperme ;
- régulations du développement des follicules ovariens, du nombre d'ovulations et de la maturation ovocytaire, du développement folliculaire terminal ;
- amélioration des méthodes de fécondation *in vitro* à des fins de transgénèse et de production d'embryons ;
- maîtrise de la reproduction de l'espèce équine : activité ovarienne, photopériodisme, fécondation *in vitro* et amélioration des techniques de conservation du sperme pour l'insémination artificielle.

OBJECTIFS ET INTÉRÊTS SCIENTIFIQUES DE QUELQUES MODÈLES

Les thématiques de recherche

Le comportement

Le succès du cycle reproducteur des animaux de ferme implique la réalisation, non seulement d'événements physiologiques mais également d'interactions comportementales. Ainsi, l'activité de recherche en comportement s'oriente surtout vers le comportement sexuel et la relation mère-jeune. L'objectif est double : i) comprendre les mécanismes neurobiologiques contrôlant l'expression du comportement sexuel chez la brebis et le bélier (Balthazard & Fabre-Nys, 2001 ; Gelez *et al.* 2006 ; Fabre-Nys & Gelez, 2007), ii) étudier les processus physiologiques et sensoriels impliqués dans le développement de la relation mère-jeune (Nowak *et al.* 1997 ; Lévy *et al.* 2001). L'intérêt du modèle ovin réside dans le fait que mère et jeune établissent une relation d'attachement forte, basée sur la reconnaissance mutuelle entre partenaires. De ce fait, une partie de l'activité se focalise sur les méca-

nismes neurobiologiques de la reconnaissance olfactive de l'agneau (Perrin *et al.* 2007 ; Lévy & Keller, 2008).

Neurobiologie et fonction de reproduction

Le contrôle de l'ovulation

La fonction de reproduction est sous la dépendance d'un petit nombre de neurones les neurones à GnRH (Caraty *et al.* 2001), regroupés dans l'aire préoptique de l'hypothalamus. Leur activité, sans doute spontanément pulsatile, dépend de facteurs internes (stéroïdes, peptides gonadiques) et externes (lumière, alimentation) qui n'agissent pas directement sur les neurones à GnRH, mais vraisemblablement sur des neurones aminergiques et/ou peptidergiques, regroupés dans des structures fonctionnellement situées en amont (Dufourny *et al.* 2005). Mieux connaître le mode de fonctionnement des neurones à GnRH, la synchronisation de leur activité pulsatile, l'influence des facteurs externes et internes sur leur décharge doit permettre de comprendre les mécanismes conduisant au déclenchement du pic préovulatoire de LH (Luteinizing Hormone) et à terme, de maîtriser le moment de l'ovulation (Skinner *et al.* 2003). En outre, une meilleure connaissance des mécanismes centraux qui contrôlent l'ovulation et le comportement sexuel reste un préalable indispensable à l'amélioration des protocoles de maîtrise du cycle ovarien chez les mammifères domestiques.

L'influence de la lumière

La photopériode constitue le principal facteur externe responsable des variations saisonnières de l'activité sexuelle (Malpaux *et al.* 2001 ; Thiéry *et al.* 2006). Chez les mammifères, l'information photopériodique est perçue par la rétine et transmise par voie nerveuse à la glande pinéale (Malpaux 2006). Le signal jour/nuit y est transformé en un rythme circadien de la sécrétion de mélatonine. Cette hormone module la rétroaction négative des stéroïdes sur l'axe hypothalamo-hypophysaire et conséquemment les sécrétions gonadotropes. Ses sites d'action ont été localisés dans l'hypothalamus pré-mamillaire (Migaud *et al.* 2005) et les recherches menées visent à mieux appréhender les mécanismes neuronaux impliqués dans le transfert de l'information de la glande pinéale aux neurones à GnRH.

L'hypophyse

L'hypophyse intègre les informations d'origine hypothalamique au travers de nombreuses interactions paracrines et les relaie en produisant des hormones qui jouent des rôles essentiels dans le métabolisme, la croissance, la reproduction (Taragnat 2001). L'étude des fonctions hypophysaires est réalisée dans une optique moderne de physiologie intégrative, en faisant porter les analyses aux différents niveaux, moléculaire, cellulaire et organique (Fafioffe *et al.* 2004 ; Faure *et al.* 2005).

L'étage périphérique

Les traitements par les gonadotropines

Les gonadotropines hypophysaires jouent un rôle essentiel dans le contrôle des activités gamétogénétiques et endocrines

des gonades (Bidart & Maurel, 1997). Elles sont utilisées de façon intensive pour l'induction et la synchronisation de l'œstrus et de l'ovulation chez les mammifères domestiques. Ces traitements hormonaux contribuent largement à l'amélioration génétique des troupeaux, à l'harmonisation de la production laitière et à la rentabilité des élevages (Terqui *et al.* 2000). Ils sont d'un intérêt incontestable pour la planification de la reproduction des petits ruminants.

Le gamète mâle et la fertilité

La gamétogenèse mâle est un processus complexe qui transforme une cellule souche en une cellule hautement polarisée, spécialisée pour se déplacer, reconnaître et fusionner avec un ovocyte de la même espèce. À la sortie du testicule, les spermatozoïdes, bien que morphologiquement différenciés, ne possèdent aucune de ces propriétés (Dacheux & Dacheux, 2001). Celles-ci sont acquises progressivement, à la suite de discrètes modifications cellulaires des gamètes qui se produisent de façon séquentielle lors de leur transit dans le tube épидидymaire, long tubule pelotonné qui relie le testicule au canal déférent. Ce mécanisme de différenciation, essentiellement contrôlé par des interactions protéiques avec des cellules somatiques, est un mécanisme unique parmi toutes les différenciations cellulaires de l'organisme (Dacheux *et al.* 2003 ; 2005). La connaissance de la phase finale de la différenciation des gamètes mâles constitue une étape essentielle pour la maîtrise de leur pouvoir fécondant. Les recherches développées concernent le rôle de l'épithélium épидидymaire sur la maturation post-gonadique des spermatozoïdes (Metayer *et al.* 2002). La nature et la régulation des sécrétions protéiques de l'épithélium épидидymaire sont étudiées par des approches *in vivo* et *in vitro* chez les porcins, les ovins, les bovins et les équins.

Le follicule, l'ovocyte et le développement embryonnaire

À la naissance, l'ovaire de la femelle de mammifère contient plusieurs centaines de milliers de follicules. Seuls quelques-uns parviendront au terme de leur développement et délivreront, lors de l'ovulation, un ovocyte capable d'assurer avec succès la fécondation et le développement à terme (Fabre *et al.* 2006). L'amélioration de ce rendement nécessite l'acquisition de connaissances concernant la régulation locale et endocrine de la croissance folliculaire, la différenciation cellulaire et moléculaire de l'ovocyte et le dialogue entre l'ovocyte et les compartiments somatiques du follicule (Monniaux *et al.* 2000). Ces connaissances sont exploitées à des fins d'amélioration des techniques d'assistance à la reproduction *in vivo* (stimulation et synchronisation des ovulations, production et cryopréservation d'embryons) (Berthelot *et al.* 2003 ; Cuello *et al.* 2005) et *in vitro* (maturation ovocytaire, fécondation et développement *in vitro*, viabilité et congélabilité des embryons produits). En outre, plusieurs programmes de transgénèse porcine par micro-injection dans les pronoyaux sont réalisés en collaboration avec l'INSERM, en vue de produire des organes et tissus porcins tolérant la xénogreffe à l'homme.

UNE PIÈCE MAÎTRESSE DU DISPOSITIF : LA PLATE-FORME DE CHIRURGIE EXPÉRIMENTALE

La chirurgie réparatrice des animaux domestiques pratiquée par les vétérinaires ne répond pas aux attentes des chercheurs. Aussi une équipe de l'Unité s'est-elle chargée très tôt d'adapter les techniques chirurgicales ou d'en inventer de nouvelles pour répondre aux problèmes physiologiques spécifiques posés aux chercheurs, qu'ils soient de l'INRA ou extérieurs à l'Institut. La plate-forme de chirurgie expérimentale appelée « Hôpital - Abattoir Expérimental » (HAE) constitue alors un outil performant permettant de pratiquer des actes bien adaptés en neurochirurgie et en chirurgie abdominale des animaux de ferme. Plate-forme RIO (Réseau Inter-Organisme), elle répond à une charte spécifique et est certifiée ISO 9001. L'HAE assure ainsi, pour les équipes de recherche, les actes chirurgicaux, les soins pré- et post-opératoires (pôle hôpital expérimental). Le pôle hôpital expérimental de l'HAE met en place les moyens nécessaires aux interventions chirurgicales (neurochirurgie – déconnexion hypothalamo-hypophysaire, hypophysectomie, canulation des structures cérébrales – chirurgie abdominale de la sphère génitale – collecte et transfert d'embryons, ponction d'ovocytes, cathétérisme artériel et veineux) et prend en charge le suivi post-opératoire et expérimental des animaux. L'HAE assure aussi l'abattage des animaux (pôle abattoir expérimental, agréé Européen depuis 1997), réalise des prélèvements d'organes *post mortem* et valide les approches chirurgicales.

Huit personnes, dont un chirurgien-vétérinaire, sont actuellement impliquées dans le fonctionnement du service et réalisent environ 1 400 interventions par an (chiffre stable depuis une dizaine d'années). La *figure 1* récapitule les types d'interventions réalisées en 2005.

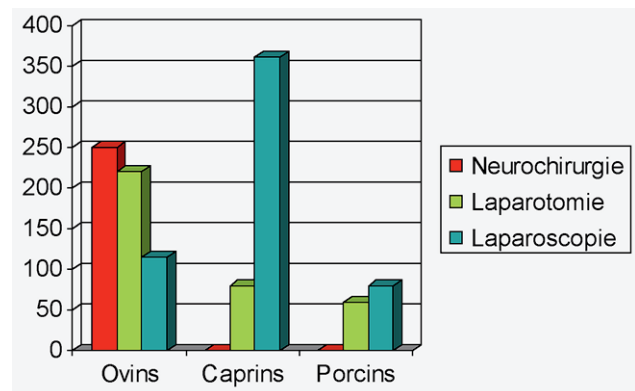


Figure 1 : Types d'interventions chirurgicales réalisées en 2005 sur Ovis, Caprins et Porcins.

Chez les Ovis :

laparotomie = prélèvements de fœtus, collecte d'embryons et d'ovocytes, ovariectomies ; laparoscopie = endoscopie, transfert d'embryon.

Chez les Caprins :

laparotomie = collecte d'embryons et d'ovocytes ; laparotomie = endoscopie, transfert d'embryon, ponction folliculaire.

Chez les Porcins :

laparotomie = collecte et transfert d'embryon ; laparoscopie = coelochirurgie.

Depuis 2004, la partie « travaux pratiques » de l'enseignement délivré en vue de l'obtention du diplôme inter-universitaire (DIU) de coeliochirurgie, dédié aux infirmières et aux jeunes chirurgiens, est organisée et réalisée dans les trois salles d'opérations (10 journées de formation par an). La partie théorique est délivrée par la Faculté de Médecine de Tours (Université François Rabelais de Tours). Une formation spéciale à l'expérimentation animale de niveau I a été créée en 2008. L'apport de l'INRA réside dans l'organisation de séances pratiques sur les animaux de ferme : contention, anesthésie, analgésie, endoscopie.

CONTRAINTES

L'animal être sensible

Les règles relatives à la protection animale ont été prises en compte au niveau européen et français. Tout animal étant un être sensible, il doit être placé par son propriétaire ou son utilisateur (dans le cadre de la recherche expérimentale) dans des conditions compatibles avec les impératifs biologiques de son espèce (article L. 214-1 du Code rural). Évidemment, les nécessités de la recherche biologique, médicale, ou vétérinaire, et les limites actuelles des méthodes alternatives, rendent incontournable le recours à l'expérimentation animale pour faire progresser les connaissances, pour améliorer le diagnostic et le traitement des maladies et d'une manière générale, préserver la santé. L'expérimentateur a donc le devoir de s'assurer que leur santé et leur bien-être ne sont pas inutilement menacés et la prévention de toute souffrance inutile doit être son premier souci.

La douleur

Il peut être très difficile d'évaluer l'intensité de la douleur et de la détresse chez un animal expérimental. Bien que les animaux ne puissent pas décrire ce qu'ils ressentent, il ne faut jamais sous-estimer leur sensibilité à la douleur. Le doute doit bénéficier à l'animal. Les protocoles expérimentaux incluant la chirurgie expérimentale sont susceptibles d'occasionner des douleurs, de modérées à sévères : l'expérimentateur a par conséquent le devoir de soustraire l'animal expérimental à cette expérience douloureuse, par une prévention et un traitement adéquat. Cette nécessité amène l'expérimentateur à être capable d'identifier une expression de la douleur par l'animal, qui peut différer d'une espèce à l'autre, et à pouvoir en évaluer l'importance. En fonction de l'intensité du phénomène douloureux, l'expérimentateur prescrira un traitement antalgique, mettra en œuvre une anesthésie ou devra parfois se résoudre à euthanasier l'animal pour abrégé ses souffrances.

Prise en charge des animaux en chirurgie

Préparation des animaux

Les animaux entrent en salle de mise à jeun la veille de l'intervention (l'avant-veille pour les interventions sur le tractus digestif) et ce, en limitant le stress autant que possible. Les principaux anesthésiques utilisés sont :

- le NESDONAL® (thiopental sodique) avec prémédication à l'atropine ;
- la kétamine en général associée à la xylazine ;
- l'isoflurane mélangé à l'oxygène pur.

Suite à l'anesthésie, les animaux sont manipulés par palan et placés sur des chariots pour limiter au maximum les risques de choc et de manipulations potentiellement traumatisantes.

Selon les exigences liées à l'expérimentation, sont mis en place :

- une cathétérisation veineuse (jugulaire chez le mouton, auriculaire chez le porc) et/ou artérielle ;
- une antibioprofylaxie ;
- un monitoring (oxymètre de pouls) ;
- un respirateur ;
- un suivi des paramètres physiologiques par analyses biochimiques et hématologiques ;
- une table chauffante (chirurgie pédiatrique ou de longue durée).

Traitements per et post-opératoires

Ils sont de trois ordres :

- anti-infectieux : essentiellement à base de sulfamides et triméthoprime (DUOPRIM®), de pénicilline, streptomycine (INTRAMICINE®) et d'oxytétracycline (TERRAMYCINE®) ;
- anti-œdémateux, associant corticoïdes et diurétique (DIURIZONE®) ;
- analgésique : les anti-inflammatoires non-stéroïdiens sont utilisés seuls dans les interventions peu invasives : phénylbutazone (PHENYLARTHRITE® hors AMM), acide acétylsalicylique (VETALGINE®), flunixin méglumine (FIDANYNE®). Ils sont associés aux morphiniques (Morphine Aguetant 20mg/ml) dans les interventions plus invasives. Une des priorités actuelles est d'améliorer ces traitements analgésiques, notamment par la mise au point, chez les petits ruminants et les porcins, de protocoles per-opératoires associant la kétamine, la lidocaïne et la morphine en perfusion continue.

Les soins se poursuivent dans la surveillance du réveil, de la reprise de l'alimentation et dans le suivi clinique ; lors de ce suivi, nous limitons au maximum les situations de stress qui sont non seulement préjudiciables à l'animal mais peuvent, en agissant sur les paramètres physiologiques, affecter la qualité des résultats attendus par l'expérimentateur. Il est en outre indispensable, pour un suivi opératoire de qualité, que des échanges s'établissent entre les chercheurs et toute l'équipe technique et surtout, de remettre en question quotidiennement l'activité du personnel par des formations régulières.

LA RÉGLEMENTATION

En France, le décret 87-848 du 19 octobre 1987, complété des trois arrêtés ministériels du 19 avril 1988 et modifiés par le décret 2001-464 du 29 mai 2001, régit l'expérimentation animale en suivant la directive 86/609/CEE (*encadré 2*). La convention européenne sur la protection des animaux vertébrés a, quant à elle, été signée par la France le 2 septembre 1987 et publiée dans le décret 2001-486 du 6 juin 2001. La réglementation prescrit qu'une expérimentation entraînant une quelconque souffrance à un animal vertébré ne peut être conduite que si elle est nécessaire et qu'aucune méthode alternative n'est disponible. Une fois cette première condition remplie, trois autres doivent l'être, elles portent sur :

- **l'origine des animaux** : ils doivent provenir d'établissements d'élevage spécialisés et ne doivent pas appartenir à des espèces protégées ;
- **les installations hébergeant les animaux destinés à des expérimentations** : elles doivent être agréées par la Direction des Services Vétérinaires et conçues en conformité avec la directive européenne 86/609/CEE ; la validité de l'agrément est de cinq ans ;
- **les personnes** : toute personne manipulant des animaux vertébrés doit être formée à l'expérimentation animale ainsi qu'aux soins à leur prodiguer ; actuellement on distingue trois niveaux de formation.
 - **le niveau I** est requis pour les personnes responsables du choix des axes de recherche, des protocoles et des espèces utilisées ; cette formation leur permet d'obtenir une « autorisation nominative d'expérimenter sur l'animal ». Cette autorisation n'est possible que pour les personnes titulaires d'un diplôme sanctionnant au moins quatre années

Encadré 2

Liste des textes législatifs de référence ⁽²⁾

- **Loi 76-629 du 10 juillet 1976** relative à la protection de la nature.
Entrée en vigueur le 13 juillet 1976
- **Décret 87-848 du 19 octobre 1987** pris pour l'application de l'article 454 du code pénal et du troisième alinéa de l'article 276 du code rural et relatif aux expériences pratiquées sur les animaux.
Entrée en vigueur le 30 mars 1993
- **Arrêté du 19 avril 1988** fixant les conditions d'attribution de l'autorisation de pratiquer des expériences sur les animaux.
Entrée en vigueur le 27 avril 1988
- **Arrêté du 19 avril 1988** fixant les conditions de fourniture aux laboratoires agréés des animaux utilisés à des fins de recherches scientifiques ou expérimentales.
Entrée en vigueur le 27 avril 1988
- **Arrêté du 19 avril 1988** fixant les conditions d'agrément, d'aménagement et de fonctionnement des établissements d'expérimentation animale.
Entrée en vigueur le 27 avril 1988
- **Directive du Conseil Européen 86-609 CEE** 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.
- **Décret 2001-131 du 6 février 2001** portant publication de la Convention européenne sur la protection des animaux vertébrés utilisés à des fins expérimentales ou à d'autres fins scientifiques, adoptée à Strasbourg le 18 mars 1986 et signée par la France le 2 septembre 1987.
Entrée en vigueur le 13 février 2001
- **Décret 2001-464 du 29 mai 2001** modifiant le décret 87-848 du 19 octobre 1987 pris pour l'application de l'article 454 du code pénal et du troisième alinéa de l'article 276 du code rural et relatif aux expériences pratiquées sur les animaux.
Entrée en vigueur le 31 mai 2001

d'études supérieures dans les sciences biologiques. Sa durée de validité est de cinq ans et est renouvelable sur demande écrite du titulaire.

Remarque : les personnes pratiquant des actes chirurgicaux chez les animaux doivent de plus suivre une formation spécifique concernant les techniques chirurgicales et les soins préparatoires et post-opératoires.

- **le niveau II** est requis pour les techniciens manipulateurs qui ne doivent pratiquer que sous la direction et le contrôle d'une personne elle-même « autorisée » ; la qualification de niveau II leur permet d'obtenir « l'autorisation de participer directement aux expérimentations ».

- **le niveau III** concerne les animaliers chargés de l'entretien et des soins aux animaux ; mais si ces personnes participent

(2) Ces textes peuvent être édités dans leur globalité à partir du site de la Direction des Journaux Officiels à l'adresse suivante : <http://www.jurifrance.com>

également aux expérimentations réalisées chez des animaux vivants, elles doivent suivre une formation de niveau II et non de niveau III et auront à ce moment-là un statut réglementaire de personnes participant à l'expérimentation.

On remarque que la législation française n'impose pas aux expérimentateurs une autorisation du protocole avant chaque expérimentation. La saisine d'un Comité d'Éthique est donc à l'heure actuelle facultative.

L'ÉTHIQUE

Il est devenu évident au début du 21^e siècle, pour le public comme pour la communauté scientifique, que le projet scientifique soulève nombre de questions à caractère éthique. Dans le cadre de cette réflexion, les scientifiques doivent percevoir les questions éthiques non pas comme étrangères à leur domaine, gravitant en périphérie des sciences, mais comme une part intégrante du devoir scientifique. Il leur est ainsi crucial de prendre en compte la validité de l'expérience projetée autant que la légitimité de ce qu'elle implique pour l'animal. La validité d'une expérimentation repose sur un ensemble de critères énumérés dans l'article 6 de la Charte Nationale portant sur l'éthique de l'expérimentation animale, rédigée à la demande des ministères chargés respectivement de l'Agriculture et de la Recherche, par le Comité National de Réflexion sur l'Éthique en Expérimentation Animale (cf pp. 467–468). La légitimité, quant à elle, est porteuse d'une évaluation morale sur le droit de faire ou ne pas faire l'expérience, sur l'acceptation ou non de la douleur, sur le statut même de l'animal.

Une concertation entre l'INRA, l'INSERM, le CEA et le CNRS a eu lieu dans les années 1990 sous l'égide du Ministère de la Recherche avec pour objectif la mise en place par les établissements publics, de Comités Régionaux d'Éthique en matière

d'Expérimentation Animale (CREEA) susceptibles de répondre aux interrogations des chercheurs et aux attentes morales de la société. Ces Comités s'inscrivent dans les principes énoncés dans la Charte à laquelle ont adhéré les directions de ces organismes. Ils ont pour mission de s'assurer que les protocoles expérimentaux sont en conformité avec les bonnes pratiques de l'expérimentation animale. La répartition des Comités, régionale et inter-institutionnelle, couvre l'ensemble du territoire français et sera appelée à évoluer. Un CREEA est susceptible de réunir un nombre variable de partenaires selon la représentation des différents organismes dans la région considérée. Sous ces conditions, le Comité a pour mission d'émettre un avis éthique motivé sur les protocoles d'expérimentation animale proposés par les expérimentateurs relevant des organismes signataires. Son avis est consultatif et ne doit en aucun cas interférer avec l'évaluation scientifique du projet par les instances compétentes des organismes signataires. Lieu d'échanges avec les autres Comités régionaux sur des questions d'ordre général touchant à l'éthique en matière d'expérimentation animale, le Comité peut formuler des recommandations qu'il transmet aux directions des organismes concernés et éventuellement aux instances nationales compétentes.

L'ensemble du dispositif des CREEA aujourd'hui en place sera amené à évoluer et nul ne doute que dans un futur proche, la sollicitation d'un comité d'éthique deviendra une procédure obligatoire comme dans les pays d'Europe du Nord. La création des CREEA a matérialisé donc une avancée qui offre aux chercheurs le soutien d'une réflexion collective pour des choix partagés. Ce dispositif en devenir est maintenant complété par un Comité National de Réflexion Éthique sur l'Expérimentation Animale. La vocation d'une telle instance est de permettre le dialogue des chercheurs biologistes des secteurs public et privé avec des représentants des sciences juridiques, des associations de protection des animaux et de la nature, des associations de malades, et des associations de défense des consommateurs.

BIBLIOGRAPHIE

- Balthazart, J. & Fabre-Nys, C. 2001. Le comportement sexuel. In *La reproduction chez les mammifères et l'homme* (eds. C. Thibault & M.C. Levasseur), Chapitre 27, pp. 611–637. INRA, Ellipses, Paris.
- Bidart, J.M. & Maurel, M.C. 1997. Immunochimie des gonadotropines. In *Les gonadotropines* (eds. Y. Combarrous & P. Volland-Nail), pp. 79–105. INRA, Paris.
- Caraty, A., Duittoz, A. H., Pelletier, J., Thiery, J. C., Tillet, Y., Bouchard, P. 2001. La libération pulsatile des gonadotropines, de la prolactine et de la GH. Le contrôle de la pulsativité de LH. In *La reproduction chez les mammifères et l'homme* (eds. C. Thibault & M.C. Levasseur), Chapitre 4, pp. 85–107. INRA, Ellipses, Paris.
- Cuello, C., Berthelot, F., Martinat-Botte, F., Venturi, E., Guillouet, P., Vazquez, J.M., Roca, J., Martinez, E.A. 2005. Piglets born after non-surgical deep intrauterine transfer of vitrified blastocysts in gilts. *Animal Reproduction Science* 85 : 275–286.
- Dacheux, F. & Dacheux, J.L. 2001. L'épididyme et les glandes annexes. In *La reproduction chez les mammifères et l'homme* (eds. C. Thibault & M.C. Levasseur), Chapitre 14, pp. 290–315. INRA, Ellipses, Paris.
- Dacheux, J. L., Castella, S., Gatti, J. L., Dacheux, F. 2005. Epididymal cell secretory activities and the role of proteins in boar sperm maturation. *Theriogenology* 63 : 319–341.
- Dacheux, J. L., Gatti, J. L., Dacheux, F. 2003. Contribution of epididymal secretory proteins for spermatozoa maturation. *Microscopy Research and Technique* 61 (1) : 7–17.
- Dufourny, L., Caraty, A., Clarke, I. J., Robinson, J. E., Skinner, D.C. 2005. Progesterone-receptive dopaminergic and neuropeptide Y neurons project from the arcuate nucleus to gonadotropin-releasing hormone-rich regions of the ovine preoptic area. *Neuroendocrinology* 82 : 21–31.
- Fabre S., Pierre A., Mulsant P., Bodin L., Dipasquale E., Persani L., Monget P., Monniaux D. 2006. Regulation of ovulation rate in mammals: contribution of sheep genetic models. *Reproductive Biology and Endocrinology* 4 (1) : 20.
- Fabre-Nys, C. & Gelez H. 2007. Sexual behavior in ewes and other domestic ruminants. *Hormones and Behavior* 52 (1) : 18–25.

- Fafioffe, A., Ethier, J. F., Fontaine, J., Jeanpierre, E., Taragnat, C., Dupont, J. 2004. Activin and inhibin receptor gene expression in the ewe pituitary throughout the oestrous cycle. *Journal of Endocrinology* 182: 55–68.
- Faure, M.O., Nicol, L., Fabre, S., Fontaine, J., Mohoric, N., Mcneilly, A., Taragnat, C. 2005. BMP-4 inhibits the follicle-stimulating hormone secretion in ewe pituitary. *Journal of Endocrinology* 186: 109–121.
- Gelez, H. & Fabre-Nys C. 2006. Neural pathways involved in the endocrine response of anestrus ewes to the male or its odor. *Neuroscience* 140 (3): 791–800.
- Lévy, F. & Keller, M. 2008. Neurobiology of maternal behavior in sheep. In *Advances in the Study of Behavior* 38, Chapitre 8, pp.399–437.
- Lévy, F., Nowak, R., Schaal, B. 2001. La mère et le jeune: échanges comportementaux et régulations physiologiques. In *La reproduction chez les mammifères et l'homme* (eds. C. Thibault & M.C Levasseur), Chapitre 28, pp. 638–654. INRA, Ellipses, Paris.
- Malpoux, B. 2006. Seasonal regulation of reproduction in mammals. In *Knobil & Neill's physiology of reproduction*, (eds J. D. Neill), Chapitre 41, pp. 2231–2281. Elsevier
- Malpoux, B., Migaud, M., Tricoire, H., Chemineau, P. 2001. Biology of mammalian photoperiodism and the critical role of the pineal gland and melatonin. *Journal Biological Rhythms* 16: 336–347.
- Monniaux, D., Monget, P., Pisselet, C., Fontaine, J., Elsen, J. M. 2000. Consequences of the presence of the Booroola F gene on the intraovarian insulin-like growth factor system and terminal follicular maturation in Mérinos d'Arles ewes. *Biology of Reproduction* 63: 1205–1213.
- Metayer, S., Dacheux, F., Dacheux, J. L., Gatti, J. L. 2002. Comparison, characterization, and identification of proteases and protease inhibitors in epididymal fluids of domestic mammals. Matrix metalloproteinases are major fluid gelatinases. *Biology of Reproduction* 66 (5): 1219–1229.
- Migaud, M., Daveau, A., Malpoux, B. 2005. MTNR1A melatonin receptors in the ovine premammillary hypothalamus: day-night variation in the expression of the transcripts. *Biology of Reproduction* 72: 393–398.
- Nowak, R., Keller, M., Val-Laillet D., Lévy, F. 2007. Perinatal visceral events and brain mechanisms involved in the development of mother-young bonding in sheep. *Hormones and Behavior* 52 (1): 92–98.
- Perrin, G., Meurisse, M., Lévy, F. 2007. Inactivation of the medial preoptic area or the bed nucleus of the stria terminalis differentially disrupts maternal behavior in sheep. *Hormones and Behavior* 52 (4): 461–473.
- Skinner, D.C., Caraty, A. 2003. Prolactin release during the estradiol-induced LH surge in ewes: modulation by progesterone but no evidence for prolactin-releasing peptide involvement. *Journal of Endocrinology* 177: 453–460.
- Taragnat, C. 2001. Laxe hypothalamo-hypophysaire: ontogenèse, morphologie et aspects fonctionnels. In *La reproduction chez les mammifères et l'homme* (eds. C. Thibault & M.C Levasseur), Chapitre 1, pp. 23–47. INRA, Ellipses, Paris.
- Thiéry, J.C., Lomet, D., Schumacher, M., Lière, P., Tricoire, H., Locatelli, A., Delagrangé, P., Malpoux, B. 2006. Concentrations of estradiol in ewe cerebrospinal fluid are modulated by photoperiod through pineal-dependent mechanisms. *Journal of Pineal Research* 41 (4): 306–312.
- Terqui, M., Guillouet, P., Maurel, M.C., Martinat-Botte, F. 2000. Relationship between peri-oestrus progesterone levels and time of ovulation by echography in pigs and influence of the interval between ovulation and artificial insemination (AI) on litter size. *Reproduction, Nutrition, Development* 40: 393–404.